

DİPLOİD İNGİLİZ ÇİMİNDEN (*Lolium perenne* L.) TETRAPLOİD İNGİLİZ ÇİMİNİN ELDE EDİLMESİ İMKÂN LARI, BU BİTKİLERDE MİTOZ ve MEİOZ KROMOZOMLAR İLE BAZI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİN MUKAYESESİ(1)

Sevim SAĞSÖZ(2), Şahabettin ELÇİ(3)

ÖZET

Diploid İngiliz çiminden tetraploid İngiliz çiminin elde edilmesi, bunların sitolojik ve morfolojik karakterlerinin mukayesesi gayesi ile yapılan bu araştırmada % 0,2'lik Kolkisinle 24°C'de muamele edilen 1500 fideden % 1.6 oranında tetraploid bitki elde edilmiştir. Diploid L. perenne 2n=14, tetraploidlerde 2n=28 olduğu tesbit edilmiştir. Diploidlerin her genomunda 3 satelitli kromozom bulunmuştur. Kromozomların 3 tanesi median, 4 tanesi ise submedian sentromerlidir. Tetraploid İngiliz çiminin kromozom yapıları ve büyüklükleri diploidlerden farklı olmayıp sadece tetraploidlerde kromozom sayıları diploidlerin iki mislidir.

Diploidlerde diakinez devresinde kromozomlar VII (yedi bivalan) meydana getirmesine karşılık, tetraploidlerde çok karışık kromozom bağlantıları bulunmuştur. Kromozomların multivalanlar meydana getirmesi meiozun düzensiz seyretmesine sebep olmaktadır. Meiozun gayrimuntazamlığı neticesinde fertilitate düşmüş ve tohum tutma oranı azalmıştır.

Morfolojik karakterler arasındaki farkların önemli olup olmadıklarını tesbit için "t" kontrolleri yapılmış, genel olarak tetraploidlerin morfolojik karakterler yönünden üstün oldukları tesbit edilmiştir.

GİRİŞ

İngiliz çimi (*Lolium perenne* L.) tarihi kayıtlara göre yem bitkileri arasında ilk defa kültüre alınan bir bit-

kidir. Asya'nın mutedil iklim bölgelerinde, Kuzey Afrika'da ve Akdeniz memleketlerinde tabii olarak yetişmektedir. (Schoth, 1963).

- (1) Prof.Dr. Şahabettin ELÇİ, Prof.Dr. Fahrettin TOSUN ve Prof.Dr. Şaban KARATAŞ'dan mütetekkil jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilen eserin özetidir.
- (2) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Dr. Asistanı
- (3) Doktora yöneticisi.

İngiliz çiminin kuvvetli yumak meydana getirmesi nedeniyle sulanabilen mer'aların tesisinde, ot istihsalı ve top- rak erozyonunu önlemek maksadıyla kullanılır. Bu özelliklere ilaveten biçime ve çiğnenmeye dayanıklı olduğundan parklarda ve yeşil saha tesislerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır.

Gerek ot olarak, gerekse yeşil saha tesisinde vegetatif kısımdan istifade ettiğimiz İngiliz çiminin, gümrah gelişen yeşil aksam meydana getirmesi ve yüksek verimli olması, diğer yem

bitkilerinde olduğu gibi bu bitkide de arzu edilen hususlardır.

Bu araştırmanın gayesi diploid İngiliz çiminden poliploidi yolu ile daha iyi büyüyen, ot verimi yüksek tetraploid İngiliz çiminin ilk materyalinin elde edilmesi, morfolojik ve sitolojik özellikleri ve bunlar arasındaki farklılıkları ortaya koymak suretiyle bundan sonra yapılacak ıslah çalışmaları için faydalanılacak materyali temin etmektir.

Literatür Özeti

Kromozom sayısını iki katına çıkarmada kullanılan Sonbahar çiğdemini (*Colchicum autumnale* L.) soğan ve tohumlarından elde edilen bir alkaloiddir. Suda, alkolde ve kloroformda erir (Kostoff, 1938, Eigsti ve Dustin 1956)

Blakeslee (1937) hiçbir kimyasal maddenin poliploidi meydana getirmede kolkisin kadar tesirli olmadığını bildiriyor.

Kolkisin mitozda iğ iplikleri mekanizmasına etki eder, iğ ipliklerinin meydana gelmesine mani olur. Kromozomlar bölünür fakat kutuplara çekilmezler ve neticede kromozom sayıları iki katına çıkar. İşlemden sonra hücrelerin tekrar eski hallerine dönüşebilmeleri kolkisinün üstün tesiri ortaya koyar (Eigsti 1938, Kostoff 1938, Eigsti ve Dustin 1955, Elliot 1958 ve Allard 1960).

Levan (1931-1947), Kostoff (1938) ve Elliot (1958) poliploidide başarının bazı şartlara bağlı olduğunu ileri sürmektedirler: (1) Poliploidi için düşük

sayıda kromozom ihtiva eden bitkiler yüksek sayıda kromozom ihtiva eden bitkilerden, (2) allogam bitkiler otogamlardan ve (3) vegetatif kısımları için kültürü yapılan bitkiler, tohumları için kültürü yapılanlardan daha iyidir.

Eigsti (1938), kolkisinün etkili olmasının şu hususlarla ilgili olduğunu bildirmektedir: (a) Kolkisin solusyonunun konsantrasyonu, (b), Muamele müddeti, (c) İşlem sırasında embriyonik hücrelerin fizyolojik aktivitesi.

Kolkisinün yüksek konsantrasyonlarda kullanılması ve işlem müddetinin uzaması çimlenmede veya büyümede gecikmeye sebep olabilir. Kolkisin etkisi altında kalan fidelerde gövde şişmesi, kök inkişafının durması görülebilir.

Kolkisin ile işlem süresi ve dozu, bitkinin bünyesine organlarına ve büyüme devresine göre farklıdır. İşlemin belirli bir periyotundan sonra kolkisinün fazlasının yıkanması iyi netice sağlar (Blakeslee 1937, Kostoff 1938, Eigsti 1938 ve Myers 1939).

Ahloowalia (1967)'e göre kolkisinle yapılan işlemde en etkili yol tohumlarla çalışmaktır.

Helen ve Myers (1945), Ahloowalia (1965), *L. perenne* varyetelerinin çimlenen tohumlarını $25 \pm 4^\circ\text{C}$ 'de 3 saat müddetle kolkisinin % 0,2 lik solüsyonu ile işleme tabi tutmuşlardır.

Ahloowalia (1967), değişik iklim ve coğrafi bölgelerden temin ettiği 12 adet diploid İngiliz çiminde (*L. perenne*) kromozom sayısını iki misline çıkarmak için çalışmalar yapmıştır. Çimlenen tohumları % 0,2'lik sulandırılmış kolkisin eriğinde 25, 27 ve 30°C 'de 3 saat müddet muamele etmiş şu neticeleri elde etmiştir.

1. Muhtelif İngiliz çimi varyeteleri kolkisinden farklı şekilde etkilenmiştir.
2. Kolkisin kromozom sayısını iki misline çıkarttığı gibi aynı zamanda mutagenik etki yapmıştır.
3. Kolkisinle işleme tabi tutulan bitkiler zayıf büyümüş, koleoptil kalınlaşmış, renk koyulaşmıştır.
4. Kolkisin işleminden sonra mixoploidiye rastlanmıştır ki bu tetraploidlerin verimliliği ile zıtlık teşkil eder.

Mitoz kromozomlarının tetkikinde ön işlem için α monobromonophtalin kullanılarak çok iyi neticeler alınmıştır (Smith 1947, Elçi 1965 a, b, c ve 1966).

En çok kullanılan fiksatif 3:1 oranında hazırlanan etil alkol ve asetik asit karışımıdır. Çeşitli maksatlar için muhtelif fiksatifler kullanılabilir (Devanport 1966, Darlington ve La Cour 1969).

Bütün kromozom boyama metodları arasında Feulgen muhim bir yer

tutar. Feulgenden iyi sonuç almak için daha önce, materyali hafif bir asit içinde hidrolize etmek lâzımdır (Elçi 1965, 1966 ve Robbels, 1969).

Bradley (1948), Zeilinge (1965), lam ve lameli birbirinden ayırmadan devamlı preparat yapma tekniği anlatmaktadırlar.

Essad (1962), Elçi (1965), çiçek tozlarını boyamada kullanılan safranin gliserin hazırlanması konusunda bilgi vermektedirler.

Vardar (1962) kök, gövde ve yaprakların mikrotomda enine kesitlerini almak için materyalin fiksyasyonu, parafin kalıplarına alınmasını, kesitlerin boyanmasını etraflıca anlatmaktadır.

Farklı preparatlardaki kromozomlar çeşitli derecelerde büzüldüğünden kromozom ölçüleri ve mukayesesi için nisbi uzunluk değerleri kullanılmaktadır (Heneen 1962, Essad 1962, Elçi 1965 ve 1966).

Heneen (1962), Essad, (1962) ve Elçi (1965 a, b, c, ve 1966)'e göre sate litli kromozomlarda satelit ile kromozom kolu arasındaki mesafe toplam kol boyuna katılmamıştır. Aradaki mesafe ezne tekniğine göre değişmektedir.

Nisbi uzunluk ve kol indeksleri homolog kromozomların tesbitinde kolaylık sağlamaktadır.

Nisbi boyları hesaplarken kromozom boyu hücredeki toplam kromozom boyuna bölünerek bir kat sayı ile çarpılır. Her genom için 25 veya 50 katsayıları kullanılmaktadır.

Kol indeksleri hesaplanırken kromozomun kısa kolu uzun kola bölünür.

Essad (1962), diploid *L. perenne*'de kromozom boylarını 3 ile 5.1μ arasında bulmuştur.

Karyotip analizleri için iyi dağılıma gösteren ve kromozom morfolojileri iyi görülebilen somatik hücrelerin mikroskopta çekilmiş fotoğraflarından faydalanılmıştır (Heneen 1962, Elçi 1966).

Ahloowalia (1966), (1968), *L. perenne*'de normal diploidlerin meiozda 7 II (yedi bivalan) kromozom bağlantılarına sahip olduklarını bulmuşlardır. Tetraploidlerde ise en fazla 2 II + 6 IV, 4 II + 5 IV, 6 II + 4 IV ve 8 II + 3 IV tiplerini bulmuştur.

Crowley ve Ress (1968), fertilitenin artması kadrivalan frekansının yükselmesi, bivalan, trivalan ve univalanların frekanslarının azalması ile mümkün olacağını, selekte edilen popülasyonlarda kadrivalan frekansının yüksek olmasının bunu gösterdiğini ileri sürmektedirler.

Elde edilen tetraploidlerin ekserisinin steril olduğu ve bu sterilitenin meiotik düzensizliğin farklı şekilleri ile ilgili olduğunu bulmuşlardır. Myers (1945), Ahloowalia (1968)'e göre autotetraploidlerde meiotik düzensizliğin 3 tipi vardır. (1) Anafaz I de kadrivalanların eşit olmayan şekilde ayrılmaları, (2) Kadrivalanların tam olmayan ayrılmaları, laggardları (geciken ve bölünen univalanlar) meydana getirmeleri, (3) Eşleşmeyen kromozonlardan meydana gelen univalan frekansının yüksek olması.

Seleksiyon ile fertilitite oranı artmaktadır. Seleksiyon neticesi meiosis bölünme daha muntazam hale gelir ve aneuploid bitkilerin oranı düşmektedir (Elliot 1958).

Shalygin (1941), Ahloowalia (1967), *L. perenne*'nin her tanesi birçok kardeş verdiğine göre tetraploidlerin diploid-

lerde bulunmayan bazı değerli özelliklere sahip olmaları gözönünde bulundurulursa, tetraploidlere has yüksek derecedeki kısırlık bunların ticari olarak yetiştirilmelerini önliyeceğini bildirmektedirler.

Blakeslee (1937), Elliot (1958) ve Brewbaker (1965)'e göre autotetraploidler diploidlerin kromozom sayılarının iki katına çıkması ile meydana gelir. Kromozom sayısı iki katına çıkmış olan hücreler daha büyüktür. Bunun neticesi doku ve organlar daha büyük olur.

Genellikle autotetraploidlerde yapraklar daha kalın, daha büyük, renkleri daha koyudur. Toprağa daha derin kök saldıkları ve köklerin daha kalın olduğu bildirilmektedir.

Çiçek sayıları az fakat daha büyük ve kompaktır (Blakeslee 1937, Leván 1931-47, Cua 1951, Marie 1955, Elliot 1958, Glass 1961, Barclay 1966 ve Wetzel 1969).

Shalygin (1941), Wetzel (1969), tetraploid *L. perenne*'nin daha yoğun büyüme kabiliyetinde olduğunu, biçimden sonra tetraploidlerin daha iyi geliştiklerini bulmuştur. Yalnız tetraploidlerin sürgün verme kapasitelerinin daha düşük olduğu kanaati vardır (Allard 1960, Ahloowalia 1967).

L. Perenne'de tetraploidler diploidlere nazaran 1-2 hafta daha geç başağa kalkarlar. Bu özellikleri, kullanılmalarında büyük bir avantaj olabilir (Shalygin 1941, Elliot 1958, Wetzel 1969).

Kromozom sayısı iki misline çıkmış çiçeklerde çiçek tozları büyüktür. Bazan diploidlerin 1.5 katı olabilir (Blakeslee 1937, Maria 1955, Elliot 1958).

Maria (1955), Brewbaker (1965) stoma hücrelerinin çiçek tozu büyüklüğüne nazaran tetraploidlerin daha iyi bir ölçüsü olduğunu bildirmektedirler.

Specman ve arkadaşları (1965) diploid ve tetraploid İngiliz çimlerini birbirinden ayırmada stoma büyüklüğünün çok önemli bir ölçü olduğunu tesbit etmişlerdir.

Sıkka (1958) tetraploid *T. alexandrium*'da, yaprak epidermis hücrelerinin, aynı şekilde kök ve gövde hücrelerinin diploidlere nazaran tetraploidlerde daha büyük, olduğunu bulmuştur.

Tetraploidlerde tohumlar diploidlere nazaran daha iri bulunmuştur (Cua 1951, Allard 1960, Wetzel 1969).

MATERYAL ve METOD

I- Materyal

Araştırmada materyal olarak Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat Araştırma Enstitüsü tarafından Eskişehir'den getirilip adaptasyona alınan 6/13 kayıt numaralı diploid *Lolium perenne* L. ($2n=14$) tohumları kullanılmıştır.

II- Metodlar

A. Materyalin hazırlanması ve preparatların yapılması: Somatik hücrelerde kromozomlar üzerinde yaptığımız karyotip araştırmalar için kök uçları α -monobromonaftalinde 14-18 saat ilk işleme tabi tutulduktan sonra, tesbit için yarım saat asetik asitte tutulmuştur. Boyama için materyal 60°'de 12 dakika bekletildikten sonra Feulgen ile boyanmıştır. Preparatlar hazırlanırken kırmızı viole renginde boyanan kök uçları kesilmiş, lam üzerinde bir damla % 45'lik asetik asit içinde parçalanarak üzerine lamel kapatılmıştır. Parmakla bastırılarak kromozomların bir düzlem halinde dağılması sağlanmıştır.

Devamlı preparatların yapımı için Bradley (1948)'in bulduğu ve Zeilinge

(1965)'nin geliştirdiği metod ile lam ve lamel kaldırılmadan devamlı preparatlar hazırlanmıştır.

B. Kolkisin ile tetraploid İngiliz çiminin elde edilmesi: 300'er tohum ihtiva eden 5 petri kutusu çimlendirme dolabında 24°C de çimlendirmeye bırakılmıştır. Çimlenen tohumlar (ilk yaprak koleoptili delmeden) % 0.2'lik kolkisin sudaki eriğinde 25°C de 3 saat bekletilmiş, 3 saatin sonunda 6 defa distile su ile yıkanan tohumlar bir gece, ancak tohumları örtecek kadar bir tabaka halindeki su içinde bırakılmıştır. İşleme tabi tutulan tohumlar tekrar petri kutularındaki süzgeç kâğıtları üzerinde çimlendirme dolabında gelişmeye terk edilmiştir. 3-4 gün sonra 1 toprak + 1 kum + 1 testere talaşı karışımı hazırlanarak kasalara konulmuş, fideler bunlara şaşırtılmıştır. 3 ay sonra saksılara alınmış ve kromozom sayımı saksılardaki bitki köklerinde yapılmıştır.

C. Karyotip analizleri

1- Kromozom ölçüleri

En iyi dağılma gösteren beşer hücrede kromozomlar incelenmiştir. Bu hücrelerin mikroskopta fotoğrafları çe-

kilmiştir. Negatif filimler Agrandisöre konmuş görüntüleri kâğıt üzerine çizilmiştir. Hakiki büyütmenin ne kadar olduğunu anlamak için bir objekt-mikrometreninde fotoğrafı çekilmiştir. Negatifi agrandisöre konarak 1 mikronun ne kadar büyütüldüğü bulunmuştur.

2- Nisbi boyların-hesaplanması

Kromozom boyları hücre içindeki diğeri kromozomların toplam boylarına oranlanmıştır. Nisbi kromozom boyları bir katsayı ile çarpılarak ifade olunmuştur. Her genom için 25 katsayısı kabul edilmiştir.

3- Kromozom kollarının indeksleri

Kromozomun kısa kolu uzun kola bölünerek kol indeksleri bulunmuştur.

4- İdiogramların çizilmesi

En uzun kromozom en başta olmak üzere kromozom boylarına göre sıralanmıştır. Aynı boyda olan kromozomlar idigramdaki yerinin belirtilmesinde kromozom kol indekslerine bakılmıştır. İndeksi büyük olan daha evvel yer almıştır.

D. Meiozun özelliklerinin incelenmesi :

Meioz çiçek tozu ana hücrelerinde incelenmiştir. 3. kısım alkol, 1 kısım glasiyal asetik asit karışımı (farmer eriği) taze olarak hazırlanmıştır. Bu eriğin konulduğu tüplere birer damla, demir üç klorürün sudaki eriğinden damlatılmıştır. İncelemeye uygun başaklar bu tüplere konarak 24 saat bekletilmiştir. Bu sıvıdan çıkarılan materyal aseto karmin eriğine konularak boyanmışlardır.

Boyanan başakların binöküler lup altında çiçek tozu keseleri parçalanmış,

buradan alınan çiçek tozu keseleri lam üzerinde bir damla aseto karmin yardımı ile ezilmiş, lamel kapatılarak preparatlar hazırlanmıştır. Boyanmanın iyi olması için alkol lambasında hafif hafif ısıtılmış, daha sonra kurutma kâğıtları arasına konan preparatların üzerine bastırılmıştır.

Çiçek tozlarının boyanmasında saf-ranın gliserin karışımı kullanılmıştır (Essad 1963, Elçi 1965, 1966). Sayımda 200 çiçek tozu kullanılmış, % normal, boş ve küçük çiçek tozlarının oranı tesbit edilmiştir.

E. Diploid ve Tetraploid İngiliz çimlerinde morfolojik özellikler

Başak eksenini: Başağın en alt boğumu ile en üst boğumu arasındaki mesafe ölçülerek bulunmuştur.

Başaktaki başakçık sayısı : Başak eksenindeki boğumlar sayılmıştır.

Başaktaki başakçık sayısı x 100

Başak sıklığı = $\frac{\text{Başaktaki başakçık sayısı} \times 100}{\text{Başak eksenini uzunluğu mm.}}$

dış kavuz, iç kavuz, kapçık ölçümleri binöküler lup altında milimetrik kâğıt yardımı ile yapılmıştır.

Yaprak kalınlık, boy ve en ölçümleri için her saksıdan 15'er yaprak alınmış. Ölçümler için diploid ve tetraploidleri her birinden 10'ar saksı klon yapılmıştır.

Kardeşlenme sayımları için de bu saksılar kullanılmıştır.

Stoma ölçümleri için yaprakların alt yüzeylerinden alınan ince epidermis tabakaları lam üzerine konulmuş, bir damla gliserin damlatılarak lamel ka-

patılmıştır. Oküler mikrometre yardımıyla en ve boyları ölçülmüştür.

Yaprak, kök, gövde kesitleri için materyaller önce % 70'lik alkole konmuş sıra ile alkollerden 12'şer saat geçirilmiş, daha sonra ksilol, alkol karışımına konularak saf ksilola aktarılmıştır. Parafin blokları hazırlanmış, mikrotomda

kesitleri alınarak metilen yeşili ve mavisi ile boyanmışlardır (Vardar 1962).

Diploid ve tetraploidlerin morfolojik karakterlerinin mukayesesi için ortalamalar arasındaki farkın istatistikî yönden önemli olup olmadıkları "t" değerleri hesaplanmak suretiyle kontrol edilmiştir (Snedecor 1957, Steel ve Torrie 1960).

Araştırma Sonuçları

Diploid İngiliz çiminden tetraploid İngiliz çiminin elde edilmesi için araştırmada kullanılan 1500 fideden 24 bitkinin tetraploid olduğu tesbit edilmiştir. Elde edilen tetraploid bitki oranı % 1.6 olmuştur. Kolkisin muamelesinden etkilenen bitkilerde büyüme ve ilk köklerde gelişmenin çok yavaşladığı tesbit edilmiştir. Yaprakların daha kalın ve koyu renkte oldukları görülmüştür. Bu özellikleri gösteren fidelerin çoğu 3 aylık periyot esnasında ölmüştür.

Diploid İngiliz çimi ve araştırmadan elde edilen tetraploid İngiliz çiminin kromozom özellikleri Tablo:1 ve Tablo: 2'de görülmektedir. Bu tabloların tetkiki, mikroskoptan çekilen fotoğraflar, karyogram ve idiogramlar bize diploid materyalden meydana getirilen kromozom duplikasyonunun yeni tetraploid materyalde kolayca görülebileceğini ispatlamaktadır. Her iki materyalin homolog kromozomlarını tesbit etmek mümkün olmaktadır. Diploid İngiliz çiminin her genomunda 3 satelitli kromozom tesbit edilmiştir. Tetraploidlerde bu sayının 2 misline çıktığı görülmüştür.

Diploid ve tetraploid İngiliz çimlerinde meiozun incelenmesi sonu-

cunda diploid numunenin kromozomlarının 7 II (yedi bivalan) meydana getirmelerine karşılık tetraploid numunede diakinez safhasında halka (ring), 8, Z, U şeklinde kadrivalanlar görülmüştür. Diakinez devresinde en sık görülen kromozom bağlantıları 4 II + 5 IV ve 6 II + 4 IV şeklinde idi. Metafaz I de aynı durum görülmektedir. İncelenen 165 çiçek tozu ana hücrelerinde ortalama 4.66 kadrivalan bulunmuştur. Anafaz I de köprü (bridge) ve geciken (lagging) kromozomlar tesbit edilmiştir. Metefaz II de % 4 den daha az univalana rastlanmıştır. Anafaz II de 72 hücreden 5 tanesinde geciken kromozom görülmüştür. Bütün bunların sonucunda çiçek tozlarının bir çoğunun normal olmadıkları izlenmiştir. Diploid numunede 200 çiçek tozundan % 90'ının normal, % 10'unun boyanmamış olmasına karşılık tetraploidlerde 200 çiçek tozundan 103 tanesi normal olarak boyanmış, 48 tanesi yarı dolu, 49 tanesinin ise boyanmadığı tesbit edilmiştir.

Tohum tutma yönünden diploid numunenin % 63.27 gibi oldukça yüksek bir tohum verimine sahip olduğu, tetraploidlerde ise bu oranının ancak

Tablo 1- Diploid İngiliz çiminde (*Lolium perenne* L.) kromozomların morfolojik özellikleri.

Kromozom No	Mutlak boy (μ olarak)			Nisbi boy			Kol indeksi		
	Ort.	Min.	Mak.	Ort.	Min.	Mak.	Ort.	Min.	Mak.
I	5.762	4.142	6.500	4.369	3.974	4.801	0.878	0.642	0.947
II	5.200	3.714	6.000	3.936	3.419	4.422	0.813	0.625	0.941
III	4.985	4.000	6.420	3.766	3.601	3.994	0.599	0.428	0.800
IV	4.291	3.571	4.857	3.257	2.710	4.414	0.620	0.413	0.923
V	4.514	3.500	6.280	3.425	2.911	4.132	0.862	0.705	0.960
VI	4.414	3.142	6.500	3.318	3.012	4.343	0.506	0.466	0.576
VII	3.934	3.142	4.571	3.118	2.641	3.168	0.587	0.500	0.684

Tablo 2- Tetraploid İngiliz çiminde (*Lolium perenne* L.) kromozomların morfolojik özellikleri

Kromozom No	Mutlak boy (μ olarak)			Nisbi boy			Kol indeksi		
	Ort.	Min.	Mak.	Ort.	Min.	Mak.	Ort.	Min.	Mak.
I	5.082	4.428	5.785	4.530	4.345	4.821	0.964	0.941	1.000
II	5.000	4.500	5.571	4.420	3.928	4.924	0.920	0.833	0.968
III	4.605	4.142	5.000	4.074	3.890	4.498	0.968	0.937	1.000
IV	4.428	4.000	4.714	3.918	3.755	4.166	0.950	0.875	1.000
V	4.600	3.715	5.500	4.074	3.341	4.583	0.501	0.363	0.625
VI	4.182	3.714	4.571	3.699	3.341	6.166	0.565	0.444	0.684
VII	4.020	3.571	4.428	3.583	3.353	3.960	0.525	0.500	0.555
VIII	3.621	3.428	4.000	3.273	3.030	3.750	0.622	0.444	0.935
IX	4.125	3.857	4.500	3.662	3.437	4.225	0.955	0.928	1.000
X	3.677	2.714	4.000	3.256	2.375	3.470	0.897	0.583	1.000
XI	3.534	3.214	3.857	3.127	2.956	3.375	0.668	0.500	0.962
XII	3.434	3.142	3.714	3.039	2.892	3.250	0.497	0.400	0.571
XIII	3.171	2.785	3.857	2.803	2.500	3.312	0.539	0.446	0.656
XIV	3.071	2.714	3.357	2.712	2.548	2.937	0.527	0.400	0.900

% 8.3 olduğu bulunmuştur. Bu durum poliploidide karşılaşılan en önemli bir problemdir. Ancak, ileriki yıllerde yapılacak seleksiyonların bir çok materyalde elverişli sonuçlar verdiği bilinen bir husustur.

Tetraploidlerin morfolojik özellikleri bakımından diploidlerden genel olarak daha iri yapıları oldukları tesbit edilmiştir.

Morfolojik özelliklere ait yapılan gözlemler ve ölçümlerin sonuçları Tablo: 3'de gözden geçirildiğinde farklılığın çok önemli olduğunu görürüz.

Hiç bir ölçüm yapmadan da yan yana konulan diploid ve tetraploid bitkilere bakıldığında bu farklılığı kolaylıkla görmek mümkündür.

Tablo: 3'ün tetraploid çiçek tozlarının

Tablo 3-Diploid ve tetraploid İngiliz çimi (*Lolium perenne* L.) bitkilerinin morfolojik karakterlerinin mukayesesi.

Morfolojik karakterler	Diploid 2n Tetraploid 4n	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}} \times t_{0,01}$	%V	Min.	Mak.	t
Çiçek tozlarının boyları	2n	200	30.08 ± 0,3893	6.971	28.50	31.50	
	4n	200	40.36 ± 2,6010	14.154	30.00	51.00	16.907xx
Çiçek tozlarının enleri	2n	200	29.92 ± 0,1179	2.122	28.50	33.00	9.185xx
	4n	200	37.36 ± 1,478	21.514	18.00	48.00	
Stoma enleri	2n	110	11.55 ± 0,0903	3.125	10.80	12.00	2.624xx
	4n	110	12.16 ± 0,4231	13.898	11.10	15.00	
Stoma boyları	2n	110	34.64 ± 0,7661	8.833	30.00	42.00	37.38xx
	4n	110	60.81 ± 0,0523	6.911	54.00	66.00	
Gluma boyları	2n	150	8.81 ± 0,4132	22.02	5.75	13.80	10.88xx
	4n	150	12.88 ± 0,5800	21.14	9.00	19.00	
Gluma enleri	2n	150	1.24 ± 0,0415	15.725	1.00	1.80	19.28xx
	4n	150	1.78 ± 0,0321	8.483	1.50	2.00	
Palea superior boyları	2n	100	6.56 ± 0,3518	20.426	5.00	7.75	9.071xx
	4n	100	8.34 ± 0,0919	4.196	6.50	9.50	
Palea superior enleri	2n	100	1.39 ± 0,0950	26.043	1.10	1.75	12.643xx
	4n	100	2.05 ± 0,0175	3.268	1.65	2.15	
Palea inferior boyları	2n	100	6.87 ± 0,1454	8.064	5.25	7.90	18.634xx
	4n	100	8.61 ± 0,2993	13.240	7.10	9.25	
Palea inferior enleri	2n	100	1.35 ± 0,3534	17.77	1.00	1.75	3.674xx
	4n	100	2.05 ± 0,0173	3.2195	1.70	2.20	
Başak eksenini	2n	100	142.62 ± 6,9300	18.5037	90	200	0.938
	4n	100	138.53 ± 4,4957	12.358	108	185	
Başakçık sayısı	2n	100	14.21 ± 0,5593	14.989	10.0	19.0	2.556
	4n	100	13.22 ± 0,4595	13.237	7.0	16.0	
Başak sıklığı	2n	100	10.14 ± 0,4227	15.877	6.2	15.45	1.80
	4n	100	9.60 ± 0,3826	15.177	7.27	13.79	
Başakçıkta çiçek sayısı	2n	150	6.04 ± 0,2705	21.026	4.0	11.0	13.993xx
	4n	150	9.8 ± 0,4154	21.475	5.0	14.0	
Yaprak sıklığı	2n	150	0.16 ± 0,0120	35.250	0.05	0.25	12.632xx
	4n	150	0.28 ± 0,0137	23.0714	0.15	0.45	
Yaprak eni	2n	150	3.529 ± 0,258	34.344	1.5	6.00	4.907xx
	4n	150	4.508 ± 0,263	27.395	2.5	8.5	
Yaprak boyu	2n	150	16.66 ± 1,616	45.558	4.5	30.00	2.563x
	4n	150	19.92 ± 1,704	40.175	6.50	33.00	
Yaprak kalınlığı	2n	150	0.16 ± 0,0120	35.250	0.05	0.25	12.632xx
	4n	150	0.28 ± 0,137	23.071	0.15	0.45	
Kardeş sayısı	2n	10	70 ± 12.471	25.00	34	94	2.878x
	4n	10	51.2 ± 5.374	14.89	40	65	

boy ve enleri, stoma boyları ve enleri, dış kavuzların boyları ve enleri, iç kavuzların, kapçıkların boyları ve enleri, başakçıkta çiçek sayıları, yaprak kalınlığı ve eni için hesap edilen "t" değerleri % 1 ihtimal sınırı için verilen cetvel değerinden daha büyüktür. Gene tablodan görüldüğü gibi tetraploid yaprak boyları % 5'e göre önemlidir.

Başakçık sayısı ve kardeş sayısı için bulunan "t" değerleri % 5'e göre diploidlerde önemli olup, başak eksenini ve başak sıklığı bakımından diploid ve tetraploidler arasındaki fark önemli çıkmamıştır.

Araştırmamızda tetraploid bitkilerin % 1.6 gibi düşük bir oranda elde edilmesinin sebebini kullandığımız, varyetenin kolkisine gösterdiği tepkinin bir neticesi şeklinde düşünebiliriz (Ahloowalia 1967).

Eğer kolkisinle muameleden sonra suda yıkanan bitkiler hemen toprağa şaşırtılsaydı yaşama şansları daha fazla olacaktı. Nitekim, Elçi (1966)'de yaptığı bir araştırmada % 0.1 lik kolkisin solusyonunda 25-27°C de 3 saat beklettiği fidelerin bir kısmını filitre kâğıtları üzerinde çimlendirme dolabında tutmuş, bir kısmını hemen toprağa şaşırtmıştır. Birinci işlemde elde ettiği tetraploid bitki oranı % 0.5 iken, ikincisinde % 20.0 olmuştur.

Tablo 2 de görüleceği gibi, diploid kromozom boyları 3,9-5,7 mikron arasında olduğu tesbit edilmiştir.

Bulunan değerler Essad (1962)'in verdiği değerlere çok yakındır. Araştırmacı

3.0-5.1 μ arasında bulmuştur. Diploid İngiliz çimi için verdiği kromozom kol indeksleri bulduğumuz değerlere uygunluk göstermektedir. Yine diploid İngiliz çiminin her genomunda Essad (1962)'in bulduğu gibi 3 satelitli kromozom tesbit edilmiştir. Daha sonra diploid ve tetraploid örnekleri mukayese edildiğinde kromozom büyüklükleri ve yapıları bakımından önemli farkların bulunmadığı görülmüştür. (Tablo: 1 ve 2). Aynı zamanda kromozomların gerek mutlak ve gerekse nisbi boyları ve kol indeksleri bakımından birbirine yakın değerler gösterdikleri bulunmuştur.

Sun'i olarak elde edilen poliploidi bir autotetraploidi olup, aynı türün kromozomlarının iki misline çıkmasından meydana geldiğine göre, bu iki nümunenin kromozom morfolojilerinin birbirine benzer bulunması çok normal bir netice olarak kabul edilmelidir. Aynı şekilde tetraploidlerdeki 12 satelitli kromozom, diploid İngiliz çimindeki satelitli 6 kromozomun homologudur. Elçi (1966), çok yıllık çavdarlarda yaptığı bir araştırmada diploid çavdarları kolkisinle muamele etmiş diploid ve sun'i olarak elde ettiği tetraploidi mukayese ettiği kromozom morfolojileri arasında önemli farklar bulunmadığını tesbit etmiştir.

Ahloowalia (1968)'da diploid *Lolium perenne*'de bizim bulduğumuz gibi metafaz- I de kromozomların 7 II (yedi bivalan) meydana getirdiğini tesbit etmiştir. Bunun sonucu olarak normal çiçek tozlarının meydana geldiğini bildirmiştir. Shalygin (1941) yaptığı bir araştırmada diploidlerde tohum tutma oranının % 64.47 olmasına karşılık tetraploidlerde % 4.84 olarak bul-

muştur. Araştırmamızda bulduğumuz tohum tutma oranlarının bu değerlere çok yakın olduğu tesbit edilmiştir.

Tetraploidlerde tohum tutma oranının düşük olması bir çok sebebe dayandırılabilir. Tetraploidlerde normal boyanabilen çiçek tozu oranı ancak % 50 kadar olmuştur. Fonksiyonel çiçek tozu oranının diploidlerde tetraploidlere oranla iki katı olmasının başlıca nedenleri arasında tetraploidlerde meiosis bölünmenin muntazam olmadığı söylenebilir. Diploidlerde, diakinezde normal bivalanlar meydana gelmesine karşılık, tetraploidlerde bu devrede kadvalan, bivalan, uni ve trivalan gibi bağıntılar meydana gelmiştir. Crowley ve Ress (1968) sterilitenin sebebinin meiotik düzensizliğin çeşitli şekilleri ile ilgili olduğunu ve diakinez devresinde kromozomların multivalanlar meydana getirmelerinden ileri geldiğini bildirmektedirler.

Roo (1968) devamlı olarak yaptığı seleksiyonla tetraploidlerin C7 jenerasyonunda diploid materyalin gösterdiği derecede fertiliteye ulaşabileceğini ortaya koymuştur.

Fertilitenin düşük olması poliploidlerin değerini düşürebilir, fakat poliploidlerin iri olması autopoliploidiye önem kazandırmıştır. Blakeslee (1937) Levan (1931-47), Cua (1951), Marie (1955) Glass (1961) ve Brewbaker (1965) bu fikri destekleyici neticeler bulmuştur. Shalygin (1941), Wetzel (1969) tetraploid *Lolium perenne*'nin daha yoğun büyüme kabiliyetinde olduğunu ve biçimden sonra daha iyi geliştiğini ortaya koymuşlardır.

Blakeslee (1937) ve Marie (1955) yaptıkları araştırmalarda tetraploid çiçek tozlarının diploidlere nazaran daha büyük olduğunu bulmuşlardır. Marie (1955), Specman ve arkadaşları (1965), Brewbaker (1965) tetraploidlerde stomaların büyük olduğunu tesbit etmişlerdir. Bütün bu gözlemler bizim bulduğumuz değerleri desteklemektedir. Sıkka (1958) de tetraploidlerde yaprak epidermisi ile kök ve gövde hücrelerinin diploidlere nazaran iri olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızda aynı durum tesbit edilmiştir.

Tetraploid bitkilerden elde ettiğimiz tohumlar, diploid materyalin verdiği tohumlardan daha iri olduğu bulunmuştur (Shalygin (1941) *Lolium multiflorum*'da, Wetzel (1969) *Lolium perenne*'de tetraploidlerde tohumların iri olduğunu tesbit etmiştir.

Sonuç olarak elde ettiğimiz tetraploid İngiliz çiminin incelenen morfolojik karakterleri bakımından diploidlerden bazı üstünlükler gösterdiğini söylemek mümkündür. Bununla birlikte tetraploidlerde görülen düşük tohum tutma oranı birçok araştırmacıların ileri sürdüğü gibi devamlı seleksiyon sonucunda artırılabilirliği anlaşılmaktadır.

C₀ ve C₁ döleleri üzerinde yaptığımız gözlemler ve araştırmalar ile elde ettiğimiz sonuçlardan faydalanılarak, bu materyalin ileriki yıllerde yapılacak ıslah çalışmalarının memleket tarımında kullanılabilecek bir tetraploid İngiliz çimini ortaya çıkarma bakımından verimli olacağı kanısındayız.

POSSIBILITIES OF OBTAINING TETRAPLOID PERENNIAL RYE GRASS (*Lolium perenne* L.) FROM DIPLOID PERENNIAL RYEGRASS AND COMPARISON OF MITOTIC AND MEIOTIC CHROMOSOMES AND SOME MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THESE PLANTS

The results of these experiments conducted to obtain tetraploid perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), and to compare mitotic, meiotic chromosomes and morphological characters of these two plant types, can be summarized as follows:

1. To obtain tetraploids, 1500 diploid perennial ryegrass seeds were germinated at 24°C, in germination chamber. Before the emergence of first leaf from coleoptile, seedlings were put into 0.2 % aqueous colchicine solution, at 25°C, for three hours. After then, the seedlings which had been washed 6 times, were put in the germination chamber for 3-4 days and then transferred to flat boxes. At the end of two months, the survivors were transplanted to pots. Consequently, 1.6 % of the original seeds employed, were obtained as tetraploid perennial ryegrass.

2. It was determined that diploid perennial ryegrass had a chromosome number of $2n=14$. In each genome, three chromosomes had satellites. Three chromosomes had median and four chromosomes had submedian centromeres.

3. No differences could be found between the karyotypes of diploids and artificial tetraploids. But, the number of chromosomes in artificial tetraploids were doubled ($2n=28$).

4. In diploids, at the stages, diakinesis and metaphase I, chromosomes were

found to be in the form of 7 II. Thus the meiotic division was normal; consequently normal pollen grains were produced, and fertility was high.

5. In diakinesis and metaphase I stages of the tetraploids, pairing of the chromosomes varied very much. The multivalent formations caused abnormalities in meiotic divisions. The pairing forms of the 165 pollen mother cells studied, were as follows: 15 % 2 II + 6 IV, 48 % 4 II + 5 IV, 16 % 6 II + 4 IV, 16 % 8 II + 3 IV. In addition to these uni and multivalent chromosomes were found in the ratio of 5 %. Because of the abnormalities in the meiotic division, fertility and seed set were low.

6. The differences between the morphological characters were tested, using "t" test. As a result, length and width of pollen grains, of the stomata, of glumes, of paleas, the number of flowers per spikelet, thickness and width of leaves of the tetraploid were greater than that of the diploids and the differences were significant at 1 % level. The length of the leaves of tetraploids significantly greater than that of diploids, at 5 % level. The number of spikelets and tillers were significantly higher in diploids, at 5 % level. No significant differences were found in the length of rachis and compactness of the spike between diploids and tetraploids were found.

LİTERATÜR

- Ahloowalia, B.S., 1968. Chromosome association and fertility in tetraploid Ryegrass *Genetica* 38: 471-484.
- , 1967. Colchicine induced polyploids in Ryegrass *Eupytica* 16:49-60.
- , 1966. Chromosome pairing in aneuploid perennial Ryegrass *J. Hered.* 57: 129-34
- 1965. A root tip squash technique for screening chromosome number in *Lolium*. *Euphytica* 14: 170-192.
- Alexander, M.P., 1970 Use of a bench vise as a source of pressure for flattening chromosome preparations, *Stain technology* 45: 244-246
- Allard, R.W., 1960. *Principles of Plant Breeding*. John Wiley and Sons inc New York London S: 411-415.
- Baldwin, J.T., 1938. Chromosomes from leaves. *Science* Vol. 90. No: 2332 S: 240.
- Barclay, P.C., and E.W. Wartha, 1966. "Grasslands 4707: a new tetraploid Western Wolths ryegrass. *Proc. NZ. Grass-Ass.* 184-94.
- Bennet, E., 1964. A rapid modification of De lautour's technique for grass Leaf chromosomes. *Euphytica* Vol: 13, No: 1, 44-48.
- Bhattacharyya, N.K. and B.C. Jenkins, 1960. Karyotype analysis and chromosome designations for *Secale cereale* L. "Dakold". *Canadian Journal of Genetics and Cytology* II. No: 3, 268-277.
- Blakeslee, A.F. and A.G. Avery, 1937. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. *Jour Hered.* 28: 393-411.
- Bradley, M.V., 1948. A method for making aceto carmine squashes permanent without removal of the cover slip *Stain technology.* 23: 41 44.
- Brewbaker, J.L., 1965 *Agricultural Genetics*. Foundations of modern Genetics Series. Prentice-Hall. Inc-Englewood cliffs New Jersey S: 96-107.
- Burnham, C.R., 1964. *Discussions in Cytogenetics*. Burgess Publishing Company, 426 South Sixth Street. Minneapolis. Minnesota U.S. 268-269.
- Crowley, J.G. and H. Ress, 1968. Fertility and selection in tetraploid *Lolium*. *Chromosome* 24: 300-308.
- Cua, L., 1951. A newly devised colchicine method for inducing polyploidy in rice. *Botanical Gazette* 112: 327-29.
- Darlington, C.D. and L.F. La Cour, 1969. *The Handling of Chromosomes*. London George Allen and Unwin Ltd. S: 146-147.
- Davenport, M.D., 1966. *Histological and-Histochemical Technics* W.B. Saunders Company London S: 186-187.
- Eigsti, O.J., 1938. A cytological study of colchicine effects in the induction of polyploidy in Plants. *Proc. Nat. Acad Sci.* 24: 56-63.
- Elçi, Ş., 1965. *Agropyron junceum*-(L.) P.B. ssp. *borea atlantiçum* S.G;

- Agropyron elongatum (Host) P.B. de ve bunların melezi (F₁) ile bu melezin amfidiploidinde karyotiplerin mukayeseli analizleri Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 251, Çalışmalar: 156.
- — —, 1965. Diploid çavdar (Secale cereale L.) ile tetraploid çavdarlarda karyotiplerin analiz ve mukayesesi Ankara.
- — —, 1965. Memleketimizin önemli fiğ türlerinde kromozom sayılarının tesbiti ve kromozom morfolojilerinin mukayesesi Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 254: Çalışmalar: 158.
- — —, 1966 Çok yıllık çavdarların (Secale montanum guss) bazı morfolojik ve diğer özellikleri, Meioz Analizi ve kromozom morfolojisi ile Tetraploid çok yıllık çavdarın elde edilmesi üzerinde araştırmalar Ankara
- — —, 1966. Mitoz kromozomların tetkikinin zor olduğu bazı baklagil bitkilerinde kromozom sayımı ve karyotip analizi için elverişli bir metod. Ankara.
- — —, 1966. Yerli Autotetraploid otlak ayrığının (Agropyron cristatum) bazı morfolojik ve kültürel sıraları ile Meioz ve Mitoz özellikleri. Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 280, Çalışmalar: 175.
- — —, 1966. Yem bezelyesinde (Pisum arvense L.) kromozom sayısının tesbiti ve karyotip analizi. Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 259 Çalışmalar: 162
- Elliot, F. C. 1958. *Plant Breeding and Cytogenetics*. Mc Graw Hill Book Company Inc. Newyork. S: 147-164
- Essad, S. 1962. Etude genetique et cytogenetique des especes Lolium perenne L. Festuca pratensis Huds et de Leurs Hybrides. I.N.R. Annales de l'Amelioration des plantes Vol: 12 No: Hors Serie
- Glass, D.S. 1961. Veredeling van tetraploide raagrossen (Breeding tetraploid ryegrasses). Meded Ned Alg. Keuringsdienst Landbouwszaden Aardappelgoed 18: 90-92
- Heneen, W.K. 1962. Karyotype studies in Agropyron junceum, A. repens and their spontaneous hybrids Hereditas 48: 471-500
- Hill, H.D. and W.M. Myers, 1944. Isolation of diploid and tetraploid clones from mixoploid plants of ryegrass (L. perenne L.) produced by treatment of germinating seeds with colchicine J. Hered. 35: 359-361
- Julen, G. 1956. Pratical aspects on tetraploid clover Proc. 7th Inter Grassland Cong. 471-478
- Kostoff, D. 1938. Studies on polyploid plants. Current Science 6: 549-552
- Lautour, G. 1960. A leaf squash technique for chromosome studies in grasses. Jour Sci. 3: 293-7
- Levan, A. 1948. The cytogenetic department (derleyenler) A. Akerman, O. Tedin, K. Froier, Svalöf 1886-1946. Carl Bloms Boktrykern A. B. Lund Sweeden. S: 304-323
- MacManus, J.F.A., 1949. Stain technology 23: 99
- Marie, B., 1955. Production of polyploids by Colchicine. Euphytica, 4: 76-82

- Meyer, J.E. 1943. Colchicine - feulgen leaf smears, Stain Technology- Vol. 18: 53-56
- , 1945. Prefixing with paradichloro benzene to facilitate chromosome study. Stain Teechnology. Vol-20. (No: 4, October) 121-125
- Myers, W.M., 1939. Colchicine induced tetraploidy in perennial ryegrass J. Hered. 30: 499-504
- , 1945. Meiosis in autotetraploid L. perenne in relation to chromosomal behavior in autopoliploids. Botonical Gazetta 106 : 304-316.
- Neubar, J. and H.L. Thomas, 1966. Effects of various colchicine pH levels of Seed treatment on polyploid cell and other cytological variations in root tips of Red clover Crop Sci 6: 209-210
- Roo, R.D., 1968. Meiose en fertiliteit bif tetraploid engels reagrass (Lolium perenne L.) Meded Rij kistfac-Wetensch Gent 33: 247-258
- , 1968 Experince gained in the field of polyploid grasses, clovers and fodder beet. Rev. Agric. Brux. 21 e 1721-39
- Röbbelen, J. 1969. Sitogenetik kurs notları. Ankara.
- Sass, J.E., 1951. *Botanical Microtechnique* the Iowa State College Press. Press Building. Ames Iowa S: 106-107
- Schoth, H.A., 1963. The Ryegrasses S: 308-311 (derleyenler) H.D. Hughes, M.E. Heath ve D.S. Metcaefe Forages. The Science of Grassland Agriculture. The Iowa State College. Press. Ames. Iowa.
- Shalygin, I.N., 1941. Production of tetraploids in Lolium by treating germinating seed with colchicine Comptes Rendus (Doklady) de l Acadamic des Sciences de l' URSS Volume XXX, No : 6
- Sikka, S.N., M.S. Swaminathan and R.K.Methu, 1958. Induced polyploidy in egyptian and indian clovers. Nature 181: (4601): 32-33.
- Smith, L., 1947. The acetocarmine smear technica Stain techn. Vol. 22, No: 1, 17-31.
- Snedecor, G.V., 1957. *Statistical Methods*, The Iowa State College Press, Ames, Iowa, Page, 87-97.
- Synder, L. H. and P.R. David, 1957. *The Principles of Heredity*. D.C. Heath and Company Boston. S: 294-300.
- Speckman, G.J., J. Post and H. Dijkstra, 1965. The length of stomata as on indicator for polyploidy in rye-grasses. Euphytica 14: 225-230.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1960. *Principles and Procedures of Statistics*. P. 49-87. NC Graw-Hill Book Co.,Inc. New York, Toronto, London.
- Stöhlín, A., W. Skirdé W.P. Duniel, 1969. Zur sortenfrage bei Deutschem Weidelgrass. Das wirtschaftseigene futter. Heft. 2.
- Vardar, Y., 1962. Botanikte preparasyon tekniği. Ege Üni. Fen Fak. Kitapları Serisi: 1.
- Wetzel, M., 1969. Vergleichende untersuchungen über Inhaltsstoffe von di-und tetraploiden Weidelgrasern (Lolium sp.). Kali-Briefe. Fachgebiet. 4 Futterban und Danergruland.
- Zeilinga, A.E., G.H. Kroon, 1965 A method for making root squashes permanent, without moven of the cover slip. Euphytica 14: 36-38