T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Centaurea pseudoscabiosa Boiss. & Buhse (Asteraceae) TÜR KOMPLEKSİ VE YAKIN İLİŞKİLİ TAKSONLARIN AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Tufan AKYÜZ

YÜKSEK LİSANS

Biyoloji Anabilim Dalını

Haziran 2016
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Centaurea pseudoscabiosa Boiss. & Buhse (Asteraceae) TÜR KOMPLEKSİ VE YAKIN İLİŞKİLİ TAKSONLARIN AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Tufan AKYÜZ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Kuddisi ERTUĞRUL

2016, 55 Sayfa

Jüri
Prof.Dr. Kuddisi ERTUĞRUL
Prof.Dr. Yavuz BAĞCI
Prof.Dr. Muhittin DİNÇ
Prof.Dr. Hüseyin DURAL
Yrd. Doç. Dr. Süleyman DOĞU

Bu çalışmada, *Centaurea* cinsi *Acrocentron* seksiyonu içerisindeyer alan, taksonomik bakımdan problemli olan, *Centaurea pseudoscabiosa* **Boiss. & Buhse.** vealt taksonları ile morfolojik olarak bu türe yakın akraba olan *C. persica* Boiss. türünün taksonomik konumları ve bu taksonlar arasındaki akrabalık ilişkileri belirlenmiştir.

C. pseudoscabiosa tür kompleksiülkemizde *C. pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa* Boiss. & Buhse , *C. pseudoscabiosa* subsp. *araratica* (Azn.) Wagenitz, *ve C. pseudoscabiosa* subsp. *glehnii* (Trautv.) Wagenitz olmak üzere üç alt türle temsil edilmektedir.

Çalışmada kullanılan örneklerin moleküler ve morfolojik çalışmaları yapılarak *C. Pseudoscabiosa* Boiss.&Buhse kompleksi ve yakın akraba türleri ile taksonomik benzerlikleri karşılaştırılmıştır. Çalışmamızı oluşturan bitki örnekleri 2015 yılında yayılış alanlarından toplanmıştır. *C. persica* örnekleri ise KNYA ve GAZI herbaryumlarından temin edilmiştir. Moleküler çalışmalar kapsamında, arazi ve herbaryum örneklerindeki yapraklardan DNA'lar izole edilerek, DNA'ya ait konsantrasyon ve saflık derecesi ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra izole edilen DNA'lar uygun primerlerle ISSR-PCR (Inter-

Repeat-Polymerase Chain Reaction) işlemine tabi tutulmuştur. Oluşan bantlar değerlendirilerek, örneklerin birbirlerine olan genetik uzaklıkları belirlenerek bu genetik uzaklıklara göre ağaçlar oluşturulmuştur. Ayrıca12 örnek üzerinde 58 morfolojik karakter ölçülerek morfolojik bir benzerlik ağacı oluşturulmuştur. Moleküler ve morfolojik sonuçlar; Türkiye Folarası'nda sinonim olarak kabul edilen *C.pseudoscabiosa var. spikorensis* taksonunun alt tür kategorisinde yeniden canlandırılmasının uygun olacağını, ayrıca Hadim-Gevne Vadisinden toplanan *C.pseudoscabiosa* örneklerinin *C.pseudoscabiosa* altında yeni bir alt tür olarak değerlendirilmesi gerektiğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Acrocentron, Dendogram, ISSR-PCR.

ABSTRACT

Master Thesis

THE DETERMINATION OF RELATIONSHIP IN *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss. & Buhse. (Asteraceae) COMPLEX AND ITS CLOSELY RELATIVES

Tufan AKYÜZ

Selcuk University Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Supervisor: Prof.Dr. Kuddisi ERTUĞRUL

2016, 55 pages

Jury

Supervisor: Prof.Dr. Kuddisi ERTUĞRUL
Jury: Prof.Dr. Yavuz BAĞCI
Jury: Prof.Dr. Muhittin DİNÇ
Jury: Prof.Dr. Hüseyin DURAL
Jury: Yrd.Doç.Dr. Süleyman DOĞU

In this study, it is determined that taxonomic status and the genetic relationships between the subtaxa of *Centauera pseudoscabiosa* **Boiss. &Buhse.** located in the genus *Centaurea* and the section *Acrocentron* and *C. persica* Boiss. closely related to these taxa.

The complex of *C. pseudoscabiosa* is represented by three subspecies in Turkey such as *C. pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa, C. pseudoscabiosa* subsp. *araratica* and *C. pseudoscabiosa* subsp. *glehnii*.

The plant samples were collected from their distribution area in 2015 but, *C. persica* samples were supplied from KNYA and GAZI herbaria. By performing the molecular and morphological studies on plant samples, the taxonomic similarity of *C. pseudoscabiosa* complex was compared with the closely relatedspecies.

As part of molecular examinations, After DNA were isolated from the leaves of the field and herbarium samples, degree of concentration and purity of them were measured.

Then, the isolated DNAs were subjected to the operation of ISSR-PCR (Inter-Repeat-Polymerase Chain Reaction) with suitable primers. Result and bands were evaluated and so the genetic distances were determined and the dendogramwere formed according to these distances. In addition, by measuring the 58 morphologic characters on 12 samples a morphologic similarity tree is formed. Molecular and morphologic results support that it will be appropriate to reactivethe *C.pseudoscabiosa var. spikorensis* regarded as synonym in Turkey Flora under the category of subspecies, and additonally *C. pseudoscabiosa* samples collected from Gevne Valley in Hadim should be evaluated as a new subspecies under *C.pseudoscabiosa*.

Key Words: Acrocentron, Dendogram, , ISSR-PCR.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iii**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

ÇİZELGELER LİSTESİ ..... **ix**

RESİMLER LİSTESİ ..... **x**

ÖNSÖZ ..... **xi**

1.GİRİŞ **1**

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI **2**

3.MATERYAL VE YÖNTEM **11**

3.1.Materyal 11

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Örnekleri 11

3.2. Morfolojik Metod 12

3.3. Moleküler Metod 14

3.3.1. DNA İzolasyonu 14

3.3. 2. DNA Konsantrasyonunun Tayini 15

3.3.3. Optimizasyon 15

3.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 16

3.3.5. Elektroforez 16

3.3.6. DNA Bantlarının Skorlanması 16

3.3.7. Veri Analizi 16

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR **17**

4.1. *Centaurea* L. Cinsinin Genel Özellikleri 17

4.2. *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss.& Buhse 18

4.2.1. *C.pseudoscabiosa* subsp. *spirokensis* (Bornm.) 19

4.2.2. *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica* (Azn.)Wagenitz 21

4.2.3.*C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii* (Trautv.) Wagenitz 23

4.2.4. C.*pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa* 26

4.3. Morfolojik Araştırma Sonuçları 28

4.4. Moleküler araştırma sonuçları 33

4.4.1. DNA Konsantrasyonları 33

4.4.2. PCR Amplifikasyon Sonuçları 34

4.4.3. Skorlama ve Dendogram Oluşturulması 35

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 37

KAYNAKÇA 38

ÖZGEÇMİŞ 42

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan bitki örnekleri 11

Çizelge 3.2.Kullanılan morfolojik karakterler..... 13

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan Primerler, Primerlerin No'su, Nükleotid Dizilimleri, Baz Sayıları ve Yapışma Sıcaklıkları..... 15

Çizelge 4.1 Örneklerin nitel karakterlerinin karşılaştırılması..... 31

Çizelge 4.2 Örneklerin nitel karakterlerinin karşılaştırılması..... 32

Şekil 4.1 Örneklere ait morfolojik dendogram..... 33

Çizelge 4.3. Örneklerin Spektral Sonuçları..... 33

Şekil 4.2 Türlerin ve alt türlerin genetik ilişkilerini gösteren dendogram... 35

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1a. *C.pseudoscabiosa var.spirokensis* 20

Resim 4.1b. *C.pseudoscabiosa var.spirokensis* 21

Resim 4.2a. *C.pseudoscabiosa subsp.araratica* 22

Resim 4.2b. *C.pseudoscabiosa subsp.araratica* 23

Resim 4.3a. *C.pseudoscabiosa subsp.glehnii* 25

Resim 4.3b. *C.pseudoscabiosa subsp.glehnii* 26

Resim 4.4a. *C.pseudoscabiosa subsp.pseudoscabiosa* 27

Resim 4.4b. *C.pseudoscabiosa subsp.pseudoscabiosa* 28

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında "***Centaurea pseudoscabiosa*** Tür Kompleksi ve Yakın İlişkili Taksonların Taksonomik İlişkilerinin Belirlenmesi" başlıklı"Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalar Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Yüksek Lisans eğitim sürecinde, emeği geçen ve ilgilerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Kuddisi ERTUĞRUL'a; çalışmanın planlanması ve değerlendirilmesinde desteğini gördüğüm ve bu çalışmayı yapabilmem için her türlü laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan sayın Doç. Dr. Tuna UYSAL başta olmak üzere tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları sırasında desteğini, yardımını ve bilgilerini benimle paylaşan Uzm.Dr. Meryem BOZKURT'a, tezimin hazırlanması ve çalışmalarım sırasında katkıda bulunan Doç. Dr. Emine ARSLAN'a ve Prof.Dr. Atilla ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca bu zamana kadar maddi ve manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan eşim Hatice AKYÜZ'e, çok kıymetlim Hasan Vefa AKYÜZ ve Sinan Bera AKYÜZ'e şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma SÜ-BAP-15201051 nolu proje ile desteklenmiştir.

Tufan
AKYÜZ

Konya 2016

1.GİRİŞ

Ülkemiz; coğrafi konumu, jeolojik yapısı, farklı topoğrafik yapılara ve toprak gruplarına sahip olması, iklim çeşitliliğinin fazla olması, üç farklı bitki coğrafyasının birleştiği yerde olması ve bazı bitki grupları için gen merkezi olması gibi ekolojik ve floristik sebeplerle zengin bir flora ile çok çeşitli vejetasyon tiplerine sahiptir (Davis ve Hedge, 1975).

Türkiye Florası üzerine yapılan ilk çalışma Tournefort'un 1700-1702'de Kuzey ve Kuzeydoğu Anadolu'da yaptığı botanik amaçlı gezilerdir. İsviçreli botanikçi E. Boissier'in Anadolu'da yaptığı geziler Türkiye florasının araştırılmasında önemli başlangıç olmuştur. Boissier'in "Flora Orientalis" adlı eseri Türkiye bitkilerini kapsayan ana kaynak olması bakımından önem taşımaktadır (Boissier, 1867-1888).

P. H. Davis topladığı bitkileri önceki araştırıcıların da topladığı bitkilerle birlikte "Flora of Turkey and The East Aegean Islands" adlı 10 ciltlik eserde yayınlamıştır (Davis, 1965-1985; Davis ve ark., 1988a).

Son yıllardaki çalışmalara Türk botanikçilerin büyük destek verdiği ve editörlüğünü yaptığı 11. ek cildi eklenmiştir (Güner ve ark., 2000).

Toplanan çok sayıda bitki örneği teşhis edilirken karşılaşılan problemler bazı cinslerdeki sorunları çözmede yetersiz kalmıştır. Özellikle bu cinslerde, taksonlardaki varyasyon sınırlarının, lokalite alanlarının ve olabilecek yeni taksonların tespiti için öncelikle cins düzeyinde revizyon çalışmalarının günümüzdeki ileri teknikler kullanılarak yapılması gerekmektedir (Davis ve Hedge, 1975). Türkiye' deki bitki türü sayısı, yapılan çalışmalar sonucunda tanımlanan yeni türlerle her geçen gün artmaktadır. Yurdumuz endemik tür oranı ve çeşitliliği açısından Orta Doğu'nun en zengin florasına sahiptir. Endemik bitki bakımından en zengin ülke olan Yunanistan'da bile bu değer 800-1000 arasındadır. Bu farklılıklar göz önüne alındığında ülkemizin bitki türleri açısından ne kadar zengin ve ilginç bir ülke olduğu anlaşılmaktadır (Ekim ve ark., 2000).

Klasik taksonomi ile yapılan bitki tayinleri ve sınıflandırmalarda bazı morfolojik özellikler gözden kaçmaktadır. Ortam faktörlerine göre edinilmiş

karakterler, yeni özellikler gibi görünerek sınıflandırmada bazı karışıklıklara sebep olmaktadır. Bu nedenle klasik taksonomideki karakterler dikkate alınarak, kromozom sayıları, yapı ve strüktürlerini incelemek problemlerin çözülmesinde daha sağlıklı sonuçlar vermektedir (Tokur ve ark., 1988).

Son yıllarda, özellikle familya ve daha üst seviyedeki taksonomik kategorilerde dizi analizi çalışmaları yürütülmektedir. Çalışılan taksonomik kategorilerde yer alan çiçekli bitkilerin evrimsel ilişkileri ve yakınlıkları tespit edilerek yeniden sınıflandırmalar yapılmaktadır (APG, 2003).

Türkiye Florası adlı eser incelendiğinde bu cinse ait türlerin çeşitli morfolojik karakterlerinin birbirine yakın özellikler gösterdiği ve bu yüzden tayin anahtarında bazı problemler bulunduğu eserin yazarı tarafından da belirtilmiştir (Davis, 1975). Bu cinsin tekrar gözden geçirilmesi ve revizyonunun yapılması gerektiği de vurgulanmıştır. Ülkemizde de bu cins içinde bulunan *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss.& Buhse türü ve bu türe ait *C. pseudoscabiosa* subsp. *Pseudoscabiosa* Boiss. & Buhse., *C. pseudoscabiosa* subsp. *araratica* Wagenitz., *C. pseudoscabiosa* subsp. *glehnii* Wagenitzalt türlerinin yayılış sınırları tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu türe ait alt türlerin teşhisinde kullanılan karakterlerin, alt türlerin coğrafi yayılışına göre değişkenlik göstermesi, türlerin kesin sınırlarının belirlenememesine, dolayısıyla teşhiste birçok probleme yol açmaktadır. Oldukça fazla sayıda örneğe dayalı, taksonomik, morfolojik ve moleküler metotlarla gerçekleştirilecek olan tür seviyesindeki bu revizyon çalışmasıyla, *C. pseudoscabiosa* kompleksi ve yakın akraba türler arasındaki taksonomik problemleri ortadan kaldırmaya yönelik bir çalışmadır. Bu çalışma neticesinde elde edilen veriler, *Centaurea* cinsi üzerinde yapılacak farlklı alanlardaki çalışmalar için temel teşkil edecektir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Asterales tüm dünyada çiçekli bitkiler arasında 26000'den fazla tür sayısıyla en zengin ordolardan birisidir. Çiçekli bitkilerin en geniş familyalarından birisi olan Asteraceae, son yapılan sınıflandırmalara göre 3 alt familya ve 17 oymakta düzenlenmiş, 1535 cins ve 23000 civarında türden oluşmaktadır. Bu familya tüm

dünyada geniş bir alana yayılmış olup özellikle Meksika ve Amerika Birleşik Devleti'nin güneybatısında, Brezilya'nın güneyinde, Orta ve Güneybatı Asya'da, Güney Afrika'da ve Avustralya'da yaygın olarak bulunur. Filogenetik açıdan bu familyanın coğrafik orijininin ise Güney Amerika olduğu kabul edilmektedir (Bremer ve ark., 1992). Asteraceae familyasına ait Türkiye Florası'nda toplam 1156 tür kaydedilmiş olup tür sayısı bakımından ilk sırada yer alır. Bu türlerin 430'u endemik olup endemizm oranı % 38'dir. Ülkemizde 138 cins ile temsil edilen bu familya cins sayısı bakımından Türkiye Florası'nın ikinci büyük familyasını teşkil etmektedir (Davis ve ark., 1988a). Son düzenlemelere göre Asteraceae Türkiye'de; 103 cins, 1336 tür ile temsil edilir (Güner ve ark., 2000).

Centaurea cinsi *Centaureinae* altoymağında yer almaktadır ve monofiletiktir. Büyük bir çoğunluğu kuzey yarımkürede yayılış gösterir (Bremer ve ark., 1992).

Centaureinae altoymağı birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur ve araştırmacılar tarafından sınıflandırma bir çok revizyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Linne (1753), bu alt oymağı *Carthamus, Centaurea, Cnicus, Serratula* ve *Zoegea* olmak üzere beş cinse ayırmıştır. Cassini (1819), *Carduncellus, Carduus, Carthamus, Centaurea, Cynara, Circium, Galactites, Lappa, Onopordum, Serratula, Stoehelina, Zoegea* olamak uzere 12 cinse ayırmıştır. Hoffmann (1894), *Carduncellus, Carthamus, Centaurea, Cnicus, Crupina, Russowia, Serratula, Tricholepis, Zoegea* olmak üzere 9 cinse ayırmıştır.

Dittrich (1977) 7 , Bremer ve ark. (1992) 31 ve (Susanna ve ark., 1995) 33 cinse ayırmıştır. Yapılan birçok çalışma *Centaureinae* alt oymağında cins düzeyinde ciddi bir evrimsel değişim olduğunu göstermektedir.

Centaurea cinsini alt bölümlere ayırmak için birçok bilim adamı arka arkaya çeşitli çalışmalar ortaya koymuşve bu çalışmalar neticesinde çeşitli teklifler sunulmuştur. Yapılan çalışmaların hiçbiri sonuca ulaşmamıştır (Boissier, 1873; Love ve Löve, 1961; Holub, 1973; Cassini, 1819; Dostal, 1969). *Centaurea* ve yakın cinslerin sınıflandırılmasında en önemli ayırtedici karakterler olarak involukrum

brakteleri ve apendaj yapıları öne çıkar ki Linnaeus'da yapılan ilk sınıflandırmalarda bu temele dayandırmıştır.

Centaurea cinsini alt bölümlere ayırmak için Bentham (1873) ve Hoffmann (1894) ve özellikle Hayek (1901) çalışmalar yapmışlardır. Bentham yaptığı çalışmalarda involukrum braktelerinin yapısına göre cinsi 22 seksiyona, Hoffman ise 41 seksiyona ayırmıştır. Fakat çalışmaların büyük bir çoğunluğu cinsi tam anlamıyla alt bölümlere ayıramamıştır. Bunun sebebide çalışma yapan araştırmacıların bazı konularda hem fikir olamamasından kaynaklanmaktadır. Fakat *Cardueae* oymağında gerçekleştirilen son çalışmalar bu araştırmacıların yapmış oldukları sınıflandırma çalışmaları göz önünde bulundurularak bu günkü çalışmalara ışık tutmuştur.

Birçok araştırıcı, *Centaurea* cinsi akenleri üzerine yapmış oldukları morfolojik çalışmalar neticesinde bu cinse ait seksiyonların tipik aken yapılarına sahip olduklarını ve seksiyonlar arasında kayda değer farklılıkların olduğunu rapor etmişlerdir (Dittrich, 1977; Bremer ve ark., 1992; Susanna ve ark., 1995; Wagenitz ve Hellwig, 1996).

Türkiye Florası'nda *Centaurea* cinsinin revizyonunu yapan Wagenitz, cinsi fillari apendajlarının şekli temel olmak üzere, marjinal çiçeklerin radiant olup olmayışı, vejatatif karakterlerin büyüme şekli, kök yapısı, aken ve pappus özellikleri, anter tüpü, hayat formu, merkezi ve uç çiçeklerdeki renk değişikliklerine dayalı morfolojik özelliklerine bağlı olarak 34 seksiyona ayırmıştır. Daha önce cins olarak değerlendirilen *Cheirolepis*, yine aynı otör tarafından *Centaurea* cinsine ait bir seksiyon olarak düzenlenmiştir. Birçok tür sinonim yapılmıştır (Davis, 1975).

Centaurea cinsi taksonomik olarak çok yönlü çalışılması gereken karmaşık bir cinstir. Bu cins içerisindeki bazı seksiyonlar net bir şekilde cinsten ayrılmış olup, farklı bir cins olarak değerlendirilebilecek durumdadırlar. Ancak böyle bir çalışma sadece yakın doğu *Centaurea* cinsinin tüm gruplarına ait türlerin hala yetersiz olan sitolojik verileri çalışıldıktan sonra gerçekleştirilebilir. Ayrıca yakın akrabası olmayan çok sayıda sınırlı (izole) endemik tür vardır (Davis, 1975).

Centaurea cinsinde yapılan monografik çalışmalara göre Türkiye ve komşuları Irak, İran ve Transkafkasya bölgeleri *Centaurea* cinsi için ana farklılaşma

merkezleridir. Bu durumu özellikle tür ve seksiyon sayısının fazla oluşu destekler. Araştırmacı Türkiye'nin Asya bölümüyle Balkan Yarımadasını karşılaştırarak *Centaurea* taksonları arasında ilginç bir rapor hazırlamıştır. Bu rapora göre Türkiye'nin cins sayısı Balkan Yarımadasının iki katından daha fazla bulunmuştur. Araştırmacı bu iki alan arasında yaygın biçimde yayılış gösteren tür sayısının 25 civarında olmasını da kaydadeğer bulmuştur (Wagenitz, 1975).

Türkiye Florası adlı esere göre 105'i endemik olmak üzere 172 türü bulunmaktadır. Bunların dışında Florada 7 şüpheli ve 6 kesin bilinmeyen taksonun oldugu işaret edilmistir. Daha sonra Türkiye Florası'na ek olarak yayınlanan 10. cildinde, bu sayı 178'e ulaşmıştır (Davis ve ark., 1988a). *Centaurea* cinsinde devam eden taksonomik problemlerden biri de cinse ait sınırların belirlenememiş olmasıdır. Özellikle bu cinsten ayrı bir cins olarak ayrılması düşünülen seksiyonların bulunması ve yakın akrabası olmayan izole türlerin varlığı morfolojik olarak kesin sınırların belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Dittrich, 1977; Wagenitz ve Hellwing, 2000).

Türk botanikçilerinin hazırladığı 11. Ek cildinde bu sayıı 180'e çıkmıştır. Cheek list-III ve IV'ün yayınlanması ile sayı 192'ye çıkmıştır (Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay ve ark., 2009).

Fakat cins içerisindeki taksonomik problemlerden dolayı bazı taksonlarbaşka cinslere aktarılmıştır yada yapılan revizyonlarla cins seviyesine yükseltilmiştir. Bundan dolayı bu sayı 2012 yılında yapılan son revizyonlarla Türkiye Bitkiler Listesinde 158 olarak kayıtlara geçmiştir (Uysal ve ark., 2012).

Psephellus (Cass.) DC. morfolojik, anatomik, palinolojik ve karyolojik araştırmalar neticesinde elde edilen bilgilere dayanılarak *Centaurea* cinsinden ayrılarak yeni bir seksiyon olaraka cins kategorisine yükseltilmiştir. Avrupada şu anda cins olarak değerlendirilen *Psephellus* Türkiye Florası'nda hala *Centaurea* cinsine ait birseksiyon olarak tasnif edilmiş durumdadır (Ertuğrul ve ark., 2004). *Centaurea* cinsine ait bazı morfolojik karakterlerin evrimi ile ilgili gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda aken, brakte ve apendajlarının seksiyonların ayrılmasında temel karakterler olabileceği belirtilmiştir. Ancak bu çalışmada apendaj yapılarının

ara formlar sergilediği ve oldukça çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir (Ertuğrul ve ark., 2004).

Türkiye'nin bazı endemik *Centaurea* türleri üzerine polen incelemeleri yapılmıştır (Kaya ve ark., 1996).

Birçok taksonun (*C. cariensis* Boiss., *C. consanquinea* D.C., *C. deflexa* Wagenitz, *C. dichora* Boiss & Heldr., *C. haradjianii* Wagenitz, *C. İnexpectata* Wagenitz., *C. lycia* Boiss., *C. olympica* C. Koch., *C. pinetorum* Hub.-Mor., *C. wiedemanniana* Fisch & Mey.) polen morfolojilerini ışık mikroskobu ile incelemiş ve çalışılan tüm taksonların polen özellikleri Wagenitz'in *Jacea* tipi ile uyumluluk gösterdiğini ortaya koymuştur (Pehlivan, 1996).

C. triumfetti All. A, B, C gruplarının polen morfolojilerini ışık ve elektron mikroskobunda karşılaştırmalı olarak incelemiştir. Grup C'nin polen şekli ve boyutları ve gerekse kostanın belirgin olması nedeni ile diğer iki gruptan farklı olduğunu ortaya koymuştur (Pınar ve İnceoğlu, 1996).

Tüm dünyada tohumlu bitki familyalarının sınıflandırılmasının modernleştirilmesi ve revize edilmesi amacıyla filogenetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar kapsamında özellikle familya ve daha üst seviyedeki taksonomik kategorilerde dizi analizi çalışmaları yürütülmektedir. Çalışılan taksonomik kategorilerde yer alan çiçekli bitkilerin evrimsel ilişkileri ve yakınlıkları tespit edilerek yeniden sınıflandırmalar yapılmaktadır (APG, 2003).

Asteraceae familyası içinde yer alan 50 familya ve yaklaşık 100 cinse ait örnekler üzerinde bir dizi filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir (Bremer ve ark., 2001). Bitki moleküler sistematiği alanında devam eden gelişmeler neticesinde tüm taksonomik düzeylerin spektrumunu ortaya çıkarmak ve çözümler ortaya koymak amacıyla DNA dizi analizi çalışmaları yapılmaya başlanmıştır (Soltis ve ark., 1991).

Asteraceae familyasının sınıflandırılmasında TS dizilerinin çok yararlı olduğunu ifade etmiştir. Daha sonraları bu familyaya ait cinslerin sınırlarının belirlenmesi ve filogenetik problemlerin çözülmesi amacı ile farklı oymaklara ait sekans çalışmaları yapılmıştır (Baldwin, 1992).

Çoğu moleküler filogeni çalışmaları Ribozomal DNA ve RNA sekans çalışmalarına dayanılarak gerçekleştirilir. Bitkilerde Ribozomal DNA'lar kloroplastlarda, mitokondride ve nukleusda mevcuttur. rDNA'nın sedimantasyon katsayısı değişmesine rağmen biri büyük 26S, biri küçük 18S olmak üzere iki alt ünitesi vardır. 18S ve 26S rDNA genlerinin her ikisini 5S ve 5.8S genleri oluşturmaktadır. Bu genler ribozomların büyük alt ünitelerine katkıda bulunurlar (Soltis ve ark., 1997). TS bölgesi 18S ve 26S nüklear rDNA bölgeleri arasında bulunan kısımlardır. TS dizi analizi çalışmaları özellikle Angiospermlerde cins ve tür düzeyinde sınıflandırma çalışmalarında odak noktası olmuştur. Bu nedenle TS dizileri angiospermlerde yeniden filogenetik düzenlemelerin yapılmasında değerli bir yöntem olmuştur (Baldwin, 1992).

Cheirolophus cinsinin moleküler filogenisini çalışarak cinse yakın akraba olan *Paleocyanus* ve büyük bir cins olan *Centaurea* ile kıyaslamışlardır. *Paleocyanuscrassifolius* türünü monofiletik olarak tespit etmişler ve *Cheirolophus* cinsine dahil edilmesini önermişlerdir (Susanna ve ark., 1999).Filogenetik tür çalışmaları tür seviyesindefilogeniyi yeniden yapılandırmaya, yani daha yüksek cins gibi gruplar içinde türler arasındaki akrabalıkları ölçmeye odaklanmıştır. Yeniden filogenetik yapılandırma moleküler verilerden ilerlemiş bir bilimdir (Timothy, 2001).

Centaurea cinsi ile ilgili yaptıkları çalışmada temel kromozom saysını x=7 ile x=16 arasında değişen karmaşık bir diploid kromozom serileri olarak tespit etmiştir. *Centaurea* cinsi *Acrocentron* seksiyonunun karyolojisini inceleyerek sekiz türe ait kromozom çalışması yapmışlardır (Garcia-Jacas ve ark., 1996).

Centaurea cinsinin çoğu endemik olup Jacea grubunun doğu seksiyonlarında kromozom çalışması yaparak temel kromozom sayısını x=9 olarak rapor etmiştir (Romaschenko ve ark., 2004).

Garcia-Jacas ve ark. (1996), *C. patula* kromozom sayısını n=7 olarak bulmuşlardır. Garcia-Jacas ve ark. (1997), *Centaurea* cinsinin Türkiye'de yetişmekte olan bazı türlerini karyolojik olarak incelemiş ve kromozom sayılarını vermiştir. Romaschenko ve ark. (2004), *Centaurea* cinsinin çoğu endemik olan *Jacea*

grubunun doğu seksiyonlarında kromozom sayıları ölçülmüş ve temel kromozom sayısının x=9 olduğunu doğrulamışlardır.

Cardueae oymağında yer alan türlerin kromozomlarını çalışmıştır. Çalışmasında farklı seksiyonlara ait toplam 33 türün kromozom sayılarını tespit etmiştir. *Centaurea* cinsinden yedi farklı seksiyona ait 10 türün kromozom sayılarını rapor etmişlerdir (Hellwig, 1994). Türkiye'de yayılış gösteren *Centaurea* cinsine ait dokuz tür üzerinde kromozom sayımı yapmışlardır. *Centaurea drabifolia* subsp.*detonsa*n'ın hekzaploid kromozom sayısını 2n=6x=54 olarak tespit etmişlerdir. Bu *Cheirolepis* seksiyonun temel kromozom sayısı hakkında ilk kayıttır(Garcia-Jacas ve ark., 1997).

Centaurea cinsinin 23 türü üzerinde gerçekleştirilen kromozom sayımı çalışmaları sonucunda *Jacea* grubunun Türkiye ve doğusunda yer alan komşu ülkelerde yayılış gösteren türlerinin temel kromozom sayısının x=9 olduğu rapor edilmiştir (Romaschenko ve ark., 2004)

Centaurea cinsine ait bazı türler özellikle İtalya gibi Avrupa ülkelerinde geleneksel olarak tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. *C. scabiosa* L. ve *C. cyanus* L. gibi türlerden elde edilen droglar özellikle soğuk algınlığına karşı kullanılmaktadır. Ayrıca yaralanma sonucu meydana gelen acıyı azaltmak ve tedavi etmek amacıyla biberle karıştırılmak suretiyle kullanılmaktadır. Kuvvet verici ve diüretik olarak kullanılmakla birlikte kanser tedavisinde kullanılmaları da söz konusudur (Flamini ve ark., 2001).

Birçok taksonun (*C. cariensis* Boiss., *C. consanquinea* D.C., *C. deflexa* Wagenitz, *C. dichora* Boiss & Heldr., *C. haradjianii* Wagenitz, *C. İnexpectata* Wagenitz., *C. lycia* Boiss., *C. olympica* C. Koch., *C. pinetorum* Hub.-Mor., *C. wiedemanniana* Fisch & Mey.) polen morfolojilerini ışık mikroskobu ile incelemiş ve çalışılan tüm taksonların polen özellikleri Wagenitz'in *Jacea* tipi ile uyumluluk gösterdiğini ortaya koymuştur (Pehlivan, 1996).

Türkiye Florası'na ait bazı bitkilerin anatomik özelliklerini saptamayı amaç edinen ilk çalısma Ord. Prof. Dr. A. Heilborn tarafından 1940'lı yıllarda tıbbi bitkiler üzerinde yapılmıştır (Baytop, 1994).

Centaurea mucronifera ve *Centaurea chryshantha* türlerinin temel yağları çalışılmış ve bu iki türün benzer temel yağlar içermesine rağmen temel yağları açısından taksonomik olarak ayrılmaları için birçok farklılıkların bulunduğunu tespit etmiştir (Dural ve ark., 2003)

(Ertuğrul ve ark., 2003), *Centaurea kotshyi* var. *decumbens* Wagenitz ve *Centaurea kotshyi* var. *kotschyi* taksonlarının taze kapitulasından elde ettikleri temel yağları çalışmışlardır. Her iki taksonunda temel yağ komponentinin sesquiterpenler olduğunu tespit etmişlerdir.

C. pseudoscabiosa ssp. *glehnii*,*C. sessilis* Willd. ve *C. armena* Boiss (Yaylı ve ark., 2005), *C. appendicigera* C. Koch ve *C. helenioides* Boiss. Yaylı ve ark. (2009), *C. ptosomipappoides* Wagenitz, *C. Odyssei* Wagenitz, *C. ptosomipappa* Hayek, *C. spicata* Boiss., *C. salonitana* Vis., *C. behen* Linnaeus, , *C. balsamita* Lam. ve*C. glastifolia*L Uysal ve ark. (2005),*C. Aladagensis* Köse ve ark. (2007), taksonlarının kimyasal bileşenlerini ve antimikrobiyal etkisini çalışmışlardır.

Türkiye için endemik olan birçok taksonu (*C. cariensis* Boiss. subsp. *cariensis, C. cariensis* Boiss. subsp. *longipapposa* Wagenitz, *C. cariensis* Boiss. subsp. *maculiceps* (O. Schwarz) Wagenitz, *C. cariensis* Boiss. subsp. *microlepis* (Boiss.) Wagenitz, *C. cariensis* Boiss. subsp. *niveotomentosa* (Hub.-Mor.) Wagenitz morfolojik ve palinolojik olarak incelemiş ve taksonlara ait birçok önemli morfolojik ve palinolojik karakterler rapor etmiştir. Tespit edilen bu önemli karakterler yaprak uzunluğu, papus uzunluğu, kök yapısının parçalı olması, yan köklerin toprak yüzeyine paralel büyümesi, fillariler ve involukrumdur (Dinç ve ark., 2007).

Centaurea polyclada DC.(sect.Acrolophus) taksonunun morfolojik, anatomik, ekolojik polen ve aken karakterleri açısından değerlendirerek rapor etmiştir (Uysal ve ark., 2008).

Cheirolepis seksiyonuna ait türlerin morfolojik, karyolojik ve moleküler revizyonunu yapmıştır. Morfolojik çalışmalar sonucunda taksonların benzerlik ve farklılıklarını ortaya koyan birçok moleküler çalışma rapor etmiştir. Kromozom sayısı ve moleküler çalışmaların revizyon çalışmalarında morfolojik ve moleküler

araştırma sonuçlarını desteklemede önemli olduğunu vurgulamıştır (Uysal ve ark., 2012).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Örnekleri

Bu çalışmada kullanılan bitki örneklerinin toplandıkları lokalite, bitki örnek numarası ve toplandığı yükseklik Çizelge 3. 1.' de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin teşhisinde Flora of Turkey (Davis 1988) adlı eserden yararlanılmıştır.

Çizelge 3. 1 Çalışmada kullanılan bitki örnekleri

Örnek Kodu	**Örnek İsmi**	**Toplandığı Bölge**	**Yükseklik**
TUAC1	*C.pseudoscabiosa var.spikorensis*	Gümüşhane -Deve Korusu yolu-Gülbatır arası -Yerbaşı Köyü -Kelkit yolu. KE5161TU	1950-2000
TUAC2	*C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*	Ağrı-Hamur-Tutak yolu 10-12. km'si. KE5124TU	1650-1700
TUAC3	*C.pseudoscabiosa var.spikorensis*	Gümüşhane -Deve Korusu yolu-Gülbatır arası -Yerbaşı Köyü -Kelkit yolu. KE5160TU	1950-2000
TUAC4	*C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*	Ağrı-Doğubeyazıt yolu-Diyadin yol ayrımı. KE5113TU	1900
TUAC5	*C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*	Ağrı-Diyadin-Mollakara Köyü yukarısı. KE5109TU	2000-2100
TUAC6	*C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*	Ardahan-Çıldır-Akçakale-Doğruyol köyleri arası. KE5097TU	2000
TUAC7	*C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*	Ardahan-Çıldır-Akçakale-Doğruyol köyleri arası. KE5097TU	2000
TUAC8	*C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*	Erzincan-Tercan-Tercandan Aşkaleye 15 km kala . KE5045TU	1950
TUAC9	*C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*	Erzincan-Tercan-Tercandan Aşkaleye 15 km kala. KE5045-a TU	1950

TUAC10	*C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*	Erzurumdan Oltuya giderken Aksu köyünden 8 km sonra. KE5053TU	2100
TUAC11	*cf.C.pseudoscabosa*	Hadim-Taşkent –Gevne Vadisi. KE4988	1900
TUAC12	*C.pseudoscabiosa*	Kars-Arpaçay-Çıldır yolu Akyaka sapağından 1-2 km sonra. KE5076TU	1650
TUAC13	*C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*	Ağrı. KE4498OT-TU	1700
TUAC15	*C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*	Van-Muradiye Başparmak köyünün yukarı kısımları. MM-127	2430
TUAC16	*C.persica*	Mardin:Kayalık. TE8208	1000
TUAC17	*C.persica*	Şırnak: Şenoba Hakkari 72.km Taşlık yamaçlar . ZA8192	1550

3.2. Morfolojik Metod

Arazi çalışmaları sırasında toplanan *C. pseudoscabiosa* kümesine ait 12 örnek üzerinde yapılan morfolojik çalışmada bitki tüy durumu, taban ve gövde yaprakları, çiçek ve çiçeğe ait yapılara ait nitel ve nicel toplam 58 karakter incelenmiştir. Her bir örnekte önceden tespit edilen 58 karaktere ait değerler çizelge 3.2.'de verilmiştir. Elde edilen veri matrisinden NTSYS pc2.1 programıyla dendogram oluşturulmuştur.

Çizelge 3.2.Kullanılan morfolojik karakterler

S. N	BİTKİ GENEL YAPISI						
1	Tüy Durumu	Tüysüz (0)	Hispid(1)	Tomentoz(2)	Subglabos(3)		
2	Bitki Boyu (cm)						
3	Dallanma Durumu	Basit (0)	Dallanmış (1)				
4	Gövde Tipi	Erekt (0)	Askending (1)	Erekt-Askending (2)	Dekumbent (3)		
5	Dallanma Yeri	Tabandan (0)	Ortadan (1)	Üstten (2)			
6	Gövde Çapı (mm)						
7	yaprak üst tüy	tüysüz(0)	Muricate(1)	Hispid(2)	pilod-3	hirsud-4	glabros-5
8	yaprak alt tüy	tüysüz(0)	Muricate(1)	Hispid(2)	pilod-3	hirsud-4	glabros-5
9	Yaprak ayası	Tam(0)	parçalı(1)				
10	Yaprak parça sayısı	1(0)	2-3(1)	4-5(2)			
11	Yaprak parça boyutu eni						
12	Yaprak parça boyutu boyu						
13	Yaprak uç lobu eni						
14	Yaprak uç lobu boyu						
15	Parçalanma	Basit (0)	Lirat (1)	Pinnatisekt (2)	Lirat-Pinnatisekt(3)	Pinnatifid (4)	
16	Yaprak lobu şekli	oblenceolat -1					
17	Sap Durumu	Belirgin Saplı (0)	Sapsız (1)				
18	Sap boyu						
19	Yaprak Kenarları	Düz (0)	Serrat (1)	Krenat (2)	Dalgalı (3)	Skabrid (4)	Scabrid-Dentat (5)
20	Yaprak Eni (mm)						
21	Yaprak Boyu (mm)						
22	Gövde Yaprakları	Basit (0)	Parçalı (1)				
23	Yaprak Sapı	Sapsız (0)	Saplı (1)				
24	Yaprak Kenarları	Düz (0)	Serrat (1)	Krenat (2)	Dalgalı (3)	Skabrid (4)	Scabrid-Dentat (5)
25	Yaprak Eni (mm)						
26	Yaprak Boyu (mm)						
27	Kapitula Sayısı	Her Dalda Tek (0)	Birden Fazla (1)				
28	Kapitula Uzunluğu (mm)						
29	İnvolukrum Şekli	Ovat (0)	Oblong (1)	Globoz (2)			
30	İnvolukrum Tabanı	Attenuat (0)	Roundat (1)				
31	İnvolukrum Brakte Serisi	5'ten Az (0)	5 veya 5'ten Fazla (1)				
32	İnvolukrum Braktelerinin Medyan Fillarileri	Oblong (0)	Ovat (1)	Lanseolat (2)			
33	Brakte Fillarileri Tüy Durumu	Tüylü (0)	Tüysüz (1)				
34	İnvolukrum Boyu (mm)						
35	İnvolukrum Eni (mm)						
36	Fillari dış eni(mm)						
37	Fillari dış boyu (mm)						
38	Fillari orta eni (mm)						
39	Fillari orta boyu (mm)						
40	Fillari iç eni (mm)						
41	Fillari iç boyu (mm)						
42	Medyan apendaj sil sayısı						
43	Medyan apendaj sil boyu(mm)						
44	Apendaj mukro uzunluğu (mm)						

45	Merkezi Çiçek Boyu (mm)						
46	Merkezi Çiçek Lob Uzunluğu (mm)						
47	Merkezi Çiçek Tüp Uzunluğu (mm)						
48	Aken Şekli	Oblong (0)	Ovat (1)	Lanseolat (2)	Ovoit-Oblong (3)		
49	Aken Rengi	Krem (0)	Kahverengi (1)	Kremsi-Kahverengi (2)			
50	Aken Kenarları	Düz (0)	Köşeli (1)				
51	Aken Tüyü	Var (0)	Yok (1)				
52	Aken Boyu (mm)						
53	Aken Eni (mm)						
54	Pappus Dış Halka	Barbellat (0)	Plumoz (1)	Scabrid(2)			
55	Pappus Rengi	Krem (0)	Kahverengi (1)	Kremsi-Kahverengi (2)			
56	Pappus Sırası	Belirgin Çift Sıra (0)	Basit (1)				
57	Pappus İç Halka Boyu (mm)						
58	Pappus Dış Halka Boyu (mm)						

3.3. Moleküler Metod

3.3.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için toplanan bitki örnekleri, Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Çizelge 3.1.'de yer alan bitki örneklerinin DNA izolasyonu Soltis tarafından modifiye edilen (Doyle ve Doyle, 1990)metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Soltis ve ark., 1991). Bitki materyalinden genomik DNA'nın elde edilmesi için, toplanan bitki örneklerinin yapraklarından belli miktarlarda alınıp havanda ezilerek toz haline getirildi ve bir kısmı stok için, bir kısmı da 0,0175-0,0201 gr ağırlığında alınarak ependorf tüpüne konulmuş daha sonra 65 ºC'de ısıtılmış, DNA ekstraksiyon tamponundan 500 µl ilave edilip aralıklarla karıştırılarak 65°C'de inkübe edilmiş ve 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üzerine 500 µl kloroform ilave edilmiş, 5 dakika 14.000 rpm'de santrifüjden sonra sıvı kısım yeni bir ependorf tüpüne aktarılmıştır. Üzerine tekrar 500 µl kloroform ilave edilmiştir. 5 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilip açık krem renkli sıvı kısım (süpernatant) tekrar yeni bir 16 eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Elde edilen süpernatant kısım üzerine amonyum asetat, izopropanol eklenip 3 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve sıvı kısım atılıp eppendorf tüpünün dibindeki pellete 1 ml %70'lik etanol eklenmiştir. 3 dakika 14.000 rpm de santrifüj edilip sıvı kısım tekrar atılmış pellet kısmının kuruması için ependorf tüpü 30 dakika vakumda bekletilmiştir. Bunun sonunda ependorf tüpüne 50

µl 1 x TE (Tris-EDTA) ilave edilmiş ve 15 dakika 65 ºC'de su banyosunda tutulmuştur.

3.3. 2. DNA Konsantrasyonunun Tayini

Çalışılan türlere ait farklı kısımlardan elde edilen DNA'ya ait konsantrasyonlar ve saflık derecesi ölçümleri NanoDROP 2000 ile yapılmıştır. Çalışmada Çizelge 3. 3.'de gösterilen ve British Colombia Üniversitesinden elde edilen ISSR primerleri kullanılmıştır.

Çizelge 3. 3. Çalışmada kullanılan Primerler, Primerlerin No'su, Nükleotid Dizilimleri, Baz Sayıları ve Yapışma Sıcaklıkları

Sıra No	Primer No	Nükleotid Dizilimi(5'-3')	Baz Sayısı	Yapışma Sıcaklıkları (°C)
1	UBC810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17	50
2	UBC813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	17	50
3	UBC820	GTG TGT GTG TGT GTG TC	17	52
4	UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	17	52
5	UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	17	52
6	UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	18	54
7	UBC840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	18	52
8	UBC844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	18	54
9	UBC852	TCT CTC TCT CTC TCT CRA	18	52
10	UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	18	52
11	UBC860	TGT GTG TGT GTG TGT GRA	18	52
12	UBC861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	18	54

Çizelge 3. 3'de verilen 12 primer seçilmiştir. Bu 12 primer içinden 5 tanesi (UBC810, 813, 820, 844, 852,) çalıştığımız örneklerin tümüne cevap vermiştir.

3.3.3. Optimizasyon

Öncelikli olarak seçilen primerlerden her biri için $MgCl_2$, Primer ve Taq polimeraz enzim miktarları için kullanılacak en uygun yöntem araştırılmış ve araştırmalar sonucunda (Zietkiewicz ve ark., 1994)'nın belirttiği ISSR protokolü kullanılmıştır. Denemelerde en uygun Tm sıcaklıklarını bulmak için gradient uygulanmıştır. ISSR analizi 25 µl amplifikasyon reaksiyon çözeltisi; 75 mM Tris-

HCl, pH=8.8, 20 mM $(NH4)_2SO_4$, 2 mM $MgCl_2$, 100 mM dATP, 100 mM dTTP, 100 mM dGTP, 100 mM dCTP, 0.2 mM primer, 1.0 unite Taq DNA polimeraz ve 10 ng DNA içermektedir. Sıcaklık ve döngü koşulları olarak, 94 °C'de 2 dk ön denatürasyon işleminden sonra, 36 döngü boyunca örnekler denatürasyon için 94 °C'de 1 dk, primerin DNA'ya yapışması için primere göre değişmek üzere 50-55°C 'de 1 dk ve uzama safhası için 72°C 'de 2 dk tutulmuştur. Ayrıca, örnekler son uzama safhası için 72°C 'de 10 dk bekletilmişlerdir.

3.3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Yapılan optimizasyon doğrultusunda bant sayısı ve bantlardaki parlaklık dikkate alınarak en iyi ürünün elde edildiği Tm sıcaklıkları her örneğe ayrı ayrı uygulanarak ISSR-PCR'ın gradient sonuçlarına göre en iyi bant oluşturan sıcaklıklar seçilmiştir.

3.3.5. Elektroforez

Elde edilen PCR ürünlerinden 4 µl alınarak, 2 µl yükleme solüsyonu (loading day) ile karıştırılmıştır. %1.2 (w/v) agaroz jele yüklenmiştir. Üzerine 1 X TAE yürütme tamponu eklenerek 100-200 Volt arası (30'-1 saat) mini yatay elektroforezde yürütülmüştür. Jeller UV transilluminatör yardımı ile görüntülenmiş ve UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir.

3.3.6. DNA Bantlarının Skorlanması

Bu çalışmada kullanılan örneklerin genotipinden elde edilen DNA bantları genotipler arasında karşılaştırıldı ve aynı hizada bulunanlar benzer bölge olarak düşünülerek bant varlığında 1, farklı hizalarda bulunanlar 0 olarak kodlandı. Elde edilen bütün izler bağımsız olarak ikili değişken seklinde (1 ve 0) değerlendirildi.

3.3.7. Veri Analizi

Jeller üzerindeki bantların skorlaması yapılmıştır. Skorlama işlemlerinden sonra , NTSYSpc 2.1 (Rohlf, 1997), programı kullanılıp benzerlik indeksine göre dendrogram oluşturulmuştur. Burada ölçüt; bir genotipteki herhangi bir bölgedeki bandın, soyundan geldiği başka bir genotipteki ve aynı bölgedeki bant ile benzeme ihtimalinin tahmin edilmesidir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE BULGULAR

4.1. *Centaurea* L. Cinsinin Genel Özellikleri

Tek, iki veya çok yıllık otsu bitkiler, nadiren dalları kısmen dikenli küçük çalımsı bitkiler veya herdemyeşil yapraklı daha büyük çalılar; gövde genellikle tomentoz tüylü veya skabrozdan çok hücreli hirsuta kadar değişen tüy örtüsüne sahip, nadiren tüysüz; sıklıkla sapsız gland tüylü. Yapraklar alternat dizilişli, bazen yaprakların tamamı tabanda, oldukça değişken, fakat (*C. odyssei*'deki dikenler hariç) Türkiye'de yayılış gösteren türler dikensiz; genellikle pinnatifit veya pinnatipartit, bazen dekurrent. Kapitula heterogam, diskiform veya radyant. İnvolukrum ovoid, subgloboz, yarıküremsi, hemen hemen silindirik, dikdörtgen veya mekik şeklinde, involukrum brakteleri (fillariler) çok serili, üs üste binmiş, az çok sert, neredeyse tamamı zarımsı, samansı dokuda, oldukça değişken şekillerde apendajlara sahip; apendajlar, dairesel, lanseolat veya üçgenimsi, uçları küt veya dikenimsi veya sert diken şeklinde bir mukro ile sonlanır, bazen apendajlar sadece mukro veya dikenden ibarettir, bazen de hiç yoktur. Reseptakulum düz kıllarla kaplı. Çiçekleri pembe, mor (siyahımsı mora kadar), mavi, sarı veya beyazımsı; kenardaki çiçekler nötr (bazen staminodlu), 5-8 veya daha fazla segmentli huni şeklinde yada neredeyse filiform ve belirsiz 4-5 linear segmentli, merkezi çiçekler hermafrodit. Akenler olgunlaşmada genellikle tüysüz, kısmen yandan basık, tepe kısmı kavisli veya düz, hilum tabana yakın yan tarafta, genellikle elaizomlu. Papus eşit olmayan birden fazla sıralı, merkeze doğru tedricen uzamış skabroz, barbellat veya plumoz tüylü, içteki sıra genellikle kısa ve pulsu yapıda, pappus kalıcı veya nadiren dökülücü, bazen pappus.

Cinsin en önemli taksonomik karakterleri, fillarilerin ucunda değişik şekillerdeki apendajlar ve papus morfolojisidir. Ayrıca kök yapısı, gövde dallanması gibi vejetatif karakterler de önemlidir. Türkiye Florası'nda Davis (1965-1985)belirtildiğine göre, bu cins taksonomik olarak birçok problem içermektedir. Tür açılımının birçok seksiyonda uyumsuz olması, geçişlilik gösteren türler nedeniyle ekstrem karakterlerin bir tür içerisinde birleştirilme zorunluluğu, yakın akrabası olmayan çok izole endemiklerin bulunuşu taksonomik sorun yaratan başlıca özellikler olarak sıralanmaktadır. Bu nedenle üzerinde ayrıntılı olarak çalışılması gerekmektedir. Bitkilerin taksonomik özelliklerinin belirlenmesi yanında türlerin

yaşam alanlarının özellikleri, ortamla ilişkisi, populasyon içi ve arasındaki genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla yapılan ekolojik ve genetik çalışmaların büyük önemi bulunmaktadır (Öztürk ve Seçmen, 1996; Seçmen ve ark., 2004).

4.2. *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss.& Buhse

Nouv. Mem. Soc. Nat. Mosc. 12: 131 (1860)

Bitki çok yıllık, 15-90 cm boyunda, gövde dik, basit yada üst kısmları kısmen dallanmış, genellikle çok kapitulalı, alt kısımları kısmen yoğun hispid veya hafif tomentozdan, üst kısımları subglabroza kadar değişken tüylü.Yaprakkenarları kısa fırça şeklinde skabrid, yaprak alt yüzü kısa veya seyrek uzun tüylü, orta yoğunlukta hirsut, nadiren subglabroz, yaprak üst yüzü subglabroz veya glabroz; taban yapraklar saplı, çoğunlukla lirat, genellikle 2-4 çift lanseolat segmentli, terminal segment daha büyük ve çoğunlukla lanseolat dentat, bazen yapraklar parçalanmamış, lanselat, yadapinnatisekten pinnatifite kadar, 2-4 çift lateral segmentli segment kenarları düz veya özellikle terminal segmentte dentat.Medyan gövde yaprakları sapsız, pinnatisekt veya pinnatifid, 2-5 çift lateral segmentli, segment kenarları tam veya özellikle terminal segmentler dentat, bazen küçük segmentler veya loblar karışık; üst yapraklar tam veya loblu. İnvolukrum ovat, oblong-ovoidden subglabosa kadar değişken şekilli, 20-28)x(15-)18-22(-25) mm.Fillariler çok sıralı, apendajlar üçgenimsi veya yarım ay şeklinde, fillarilerin çok küçük kısmını örter, koyu kahverengi veya kahverengi renkli, dekurrent siliat kenarlı, siller (2-)3-4(-6) mm uzunluğunda, (2-)3-4 (-6) mm uzunluğunda terminal dikenli. Çiçekler mor, kenarlarda radyant çiçek yok. Aken 4.5-7 mm, piloz tüylü, bazen seyrek tüylü, hilum tabanları yoğun tüylü,papus çift sıralı, dış sıra 6-9(-10) mm, iç sıra 2-3 mm.

1. Aken 4-6 mm uzunluğunda, involukrum eni 20 mm'den az
2. Apendajlar çok küçük, siller sadece 1,5-2-3 mm, involukrum genelde 15-17 mm genişliğinde,
3. Merkezi çiçek lob uzunluğu 7-8 mm……**subsp. *spikorensis***

3. Merkezi çiçek lob uzunluğu 4-5 mm…….**subsp.*araratica***

2. Apendajlar daha geniş, siller 2-3-5 mm involukrum genellikle daha geniş.

4. 40 cm'den uzum olan yukarıdan dallanmış bitkiler……**subsp.*pseudoscabiosa***

4. En fazla 35 cm'ye kadar, dallanmamış yada tabandan dallanmış bitkiler ……..……..……**subsp.*glehnii***

1. Aken 7 mm veya daha uzun, involukrum eni 20 mm veya daha fazla ……...***subsp. nova/yeni alttür***

4.2.1. *C.pseudoscabiosa* subsp. *spikorensis* (Bornm.)

Ertugrul **/ Yeni statü/ Stat. Nov.**

Tip örneği: B7 Erzincan: Sipikör, Jerbatan, Sint. 1890:3296

Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi; Gümüşhane-Devekorusu yolu-Gülbatır arası-Yerbaşı Köyü-Kelkit yolu, 1950-2000, Meşe Çalılıkları, 27.07.2015, K Ertuğrul 5160-5161, H.Dural, T.Uysal.



Resim 4.1a. *C.pseudoscabiosa var.spikorensis*



Resim 4.1b. *C.pseudoscabiosa var.spirokensis*

4.2.2. *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica* (Azn.)Wagenitz

Willdenowia 6:501 (1972).

Sinonimler:

Centaurea araratica Azn. in Mag. Bot. Lap. 17: 15 (1918)!

Colymbada araratica (Azn.) Holub in Preslia 45: 143 (1973

Tip örneği: [Turkey B1O Kars] entre Aralykh (Aralik) et Takalty, 10 vii 1910, B. V. D.Post 2030 (holo. G).

Doğu Anadolu Bölgesi: **A9 Erzurum**: Horasan, 1600 m, D. 32628, **B8 Erzurum**: S. of Aşkale, 1900 m, Hub.-Mor. 15889, **Muş**: S. foot of Bingöl mts., 1500 m, Kotschy 1859:302 **B9 Muş**: 30 km from Patnos to Muş, 5 km E, of

Malazgirt, 1670 m, Buttler 16008, **Erzurum**: Ağri to Horasan, 2150 m, Lamond 2567 , **Bitlis**: Nemrut Da., B.Post 675 2400 m, McNeill 558, **Ağrı**: Ağrı to Horasan, 2000-2500 m, Rech. 32800, **B/C9 Van**: Ispiriz Da., 2800 m, D. 23745, **B10** Kars: Iğdir, Ağri Da., 1550 m, Demiriz 3332, **Ağrı**: Iğdir to Doğubayazit arasi, 2000 m, Baytop 4844, **Ağrı**: Ağrı-Hamur-Tutak yolu (10-12).km, 1650-1700 m, tarla kenarları, 27.07.2015, K. Ertuğrul 5124-H.Dural, T.Uysal, aynı yer; K.Ertuğrul 4498-O.Tugay, T. Uysal.



Resim 4.2a. *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*



Resim 4.2b. *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*

4.2.3.*C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*(Trautv.) Wagenitz

Willdenowia 6: 500 (1972).

Sinonimler:

Centaurea glehnii Trautv. in Acta Horti Petrop. 4: 382 pro parte [quoad var. purpurea Trautv.] (1876).

Colymbada glehnii (Trautv.) Holub in Preslia 45: 144 (1973).

Tip örneği:[Soviet Armenia] in Armenia rossica, inter Alexandropol (Leninakan) et Mastara, vi 1875, Radde 211 (hoio. LE).

Doğu Anadolu Bölgesi: **A8 Erzurum**: 30-32 km from Oltu to Tortum, 2100-2200 m, D. 47624, **A9 Kars**: mts. E. of Kağizman, 20 km from Akçay to Cumaçay, 2200 m, D. 46710, **A9 Ardahan**, Ardahan-Çıldır-Akçakale- Doğruyol köyleri arası. 2000 m, step, K. Ertuğrul 5097-H.Dural, T.Uysal, **B9 Ağrı**: Doğubayazit to Ağri, 53 km E. of Ağrı, 1900 m, Lamond 5031; Ağrı-Doğubeyazıt yolu- Diyadin yol ayrımı, 1900 m, step, K.Ertuğrul 5113-H.Dural, T.Uysal, **Van:** 36 km from Başkale to Hoşap, 2750 m, D. 45988! **B10 Ağri/Kars:** Between Doğubayazit and Iğdir, 1620 m, 22 vi 1964, M.Zohary & Plitm.



Resim 4.3a. *C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*



Resim 4.3b. *C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*

4.2.4. C.*pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa*

Sinonim:

Colymbada pseudoscabiosa (Boiss. & Buhse) Holub inPreslia 45: 144 (1973).

Tip örneği:[Iran] Berge von Nemedabad bei Tabris, 12 vii 1847, Buhse 684 (holo. G).

Doğu Anadolu Bölgesi: **A9 Kars**: Arpaçay-Çıldır yolu-Akyaka sapağından 1-2 km sonra, 1950m, step, K. Ertuğrul 5076, H. Dural, T. Uysal, **A9 Ağrı**:

Diyadin-Mollakara Köyü yukarısı. 2100m, step, K Ertuğrul 5109-H.Dural, T.Uysal, **A8 Erzurum**: 59 km from Erzurum to Ispir, 1900 m, Hub.-Mor. 15890, **A8/9 Artvin**: Çoruh: Chod, d. Artvin, Woronow 6174, , **B8 Erzincan**: Tercan-Tercan'dan Aşkaleye 15 km kala .1950 m, K. Ertuğrul 5045-H. Dural, T. Uysal, **B8 Erzurum**: Hasankale to Hinis, 1800 m, Karamanoğlu 76-60, Erzurum'dan Oltu'ya, Aksu köyünden 8 km sonra, step, 1950 m, K Ertuğrul 5053-H.Dural, T.Uysal, **B9 Van**: Van to Şuşanis, 1750-1780 m. Hub.-Mor. 9004, **Van**-Muradiye, Başparmak köyünün yukarı kısımları, MM-127 2430, **C10Hakkari**: 48-55 km from Hakkari to Yüksekova, 1600- 1700 m, D. 44900,



Resim 4.4a. *C.pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa*



Resim 4.4b. *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*

4.3. Morfolojik Araştırma Sonuçları

Farklı lokalitelerden toplanan 12 bitki örneğiTablo 3. 2 ‘de verilen 58 nitel ve nicel karakter yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen nitel karakterler veri matrisi (Çizelge 4. 1), NT-SYS Programı ile değerlendirilerek morfolojik dendogram oluşturulmuştur (Şekil 4.1). Elde edilen nicel karakterler (Şekil 4. 2) de gösterilmiştir. Morfolojik dendogram sonuçlarına göre *C. pseudoscabiosa*’nın mevcut alt türleri belirgin bir şekilde birbirinden ayrılmamıştır. Özellikle *C. pseudoscabiosa* subsp *pseudoscabiosa*’ya ait farklı populasyonlardan alınan örneklerin aynı grup içerisinde yeralması beklenirken, dendogramda bu populasyonların farklı alt gruplarda yeraldığı gözlenmiştir. Dendogram sonuçları halen Türkiye Florasında sinonim olarak kabul edilen *C. pseudoscabiosa var. spikorensis*

populasyonlarının farklı grup olarak ayrıldığını, bu nedenle bu taksonun alt tür olarak yeniden canlandırılabileceğini, ayrıca Konya, Hadim Gevne Vadisinden toplanan *C. pseudoscabiosa*'ya yaklaştırılan örneklerin de yeni bir alt tür olarak tanımlanabileceğini desteklemektedir.

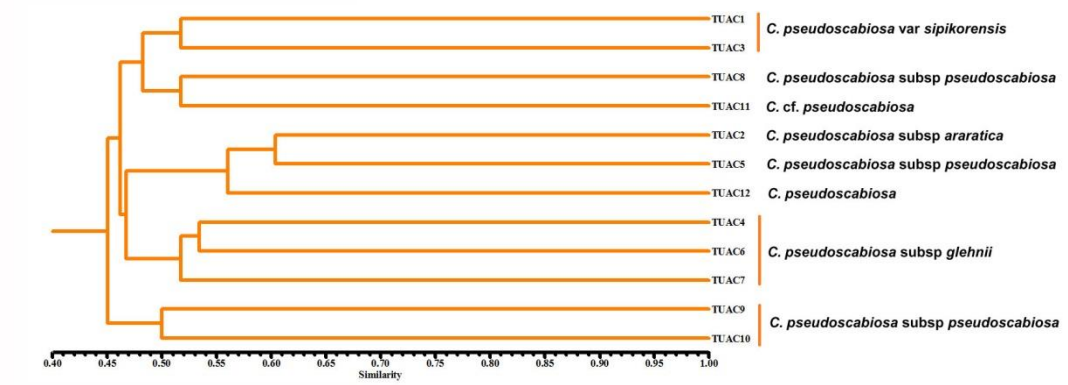
BİTKİ GENEL YAPISI	TUAC1 5161	TUAC2 5124	TUAC3 5160	TUAC4 5113	TUAC5 5109	TUAC6 5097 Kısa	TUAC7 5097 Uzun	TUAC8 5045	TUAC9 5045-a	TUAC10 5053	TUAC11 4988	TUAC12 5076	TUAC13 4498
Tüy Durumu	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz
Dallanma Durumu	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit	Basit
Gövde Tipi	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt	Erekt
Yaprak üst tüy	Hispid	Tüysüz	Hispid	Hispid	Tüysüz	Hispid	Hispid	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz
Yaprak ayası	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı	Parçalı
Parçalanma	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid	Pinnatifid
Yaprak lobu şekli	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat	oblenceolat
Yaprak Kenarları	Scabrid-Dentat	Skabrid	Scabrid-Dentat	Skabrid	Scabrid-Dentat	Skabrid	Skabrid	Skabrid	Skabrid	Skabrid	Skabrid	Scabrid-Dentat	Scabrid
Yaprak Kenarları	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid	Scabrid
İnvolukrum Şekli	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz	Globoz
İnvolukrum Tabanı	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat	Attenuat
İnvolukrum Braktelerinin Medyan Fillarileri	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat	Ovat
Aken Şekli	Ovoit-oblong	Oblong	Ovoit-oblong	Oblong	Oblong	Oblong	Oblong	Ovoit-oblong	Ovoit-oblong	Ovoit-oblong	Oblong	Oblong	Oblong
Aken Rengi	Kremsi Kahverengi	Kahverengi	Kremsi Kahverengi	Kahverengi	Kahverengi	Kahverengi	Kahverengi	Kremsi Kahverengi	Krem	Kahverengi	Kahverengi	Kremsi Kahverengi	Kahverengi
Aken Kenarları	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli	Köşeli
Pappus Rengi	Kahverengi	Krem	Krem	Kahverengi	Krem	Kahverengi	Krem	Krem	Kremsi Kahverengi	Kremsi Kahverengi	Kahverengi	Krem	Krem

Çizelge 4.1Örneklerin nitel karakterlerinin karşılaştırılması

S.N	BİTKİ GENEL YAPISI	TUAC1 5161	TUAC2 5124	TUAC3 5160	TUAC4 5113	TUAC5 5109	TUAC6 5097 Kısa	TUAC7 5097 Uzun	TUAC8 5045	TUAC9 5045-a	TUAC10 5053	TUAC11 4988	TUAC12 5076
1	Bitki Boyu (cm)	65	40	58	18	60	14	30	54,25	56,75	36	75	63
2	Gövde Çapı (mm)	3,12	3,1	2,9	1,5	2,45	1,63	3,72	2,98	3,1	3,8	2,84	4,9
3	Yaprak parça boyutu eni	5,26	4,45	6,65	6	6,81	4,98	4,6	6,02	5,5	4,5	5,16	5,5
4	Yaprak parça boyutu boyu	13,48	15,16	22,12	11	15	15	12	16,72	18	18,5	15,5	16,65
5	Yaprak uç lobu eni	10,7	6,28	11,48	9,9	12,86	9	10,4	11,01	11,23	12	11,16	11,22
6	Yaprak uç lobu boyu (mm)	54	32	54	32	50,81	50	30	46	48	46	57	52
7	Sap boyu (cm)	5,5	3,9	5,4	3,1	7,5	4,5	3,13	3,8	4,2	4,6	8	6,5
8	Yaprak Eni (cm)	4,5	3,3	4,5	3,3	3,5	3,8	3	3,28	3,8	3,9	4,9	4,5
9	Yaprak Boyu (cm)	22	9	17	12	17	14	11	16,16	19	16,2	18	17
10	Yaprak Eni (mm)	45	30	35	40	48	28	26	37	38	38	35	34
11	Yaprak Boyu (cm)	7,8	9	6,5	8	19,6	6,5	8	9,2	9,6	7,3	6,5	8,6
12	Kapitula Uzunluğu (mm)	32	30	33,5	29	33	30	36	30	32	36	35	29
13	İnvolukrum Boyu (mm)	19	21	19,8	21	19,63	24	22	16,65	18,8	22	25	18
14	İnvolukrum Eni (mm)	16	18	16,5	17	15,24	15	19,6	19,6	16,4	18	22	14,5
15	Fillari dış eni(mm)	5	6,5	5	5	4,5	4,5	4	5	3,5	5	5	4,5
16	Fillari dış boyu (mm)	6,5	9	6	7,5	5,5	6	7	7,5	5	6	5,5	5,5
17	Fillari orta eni (mm)	5,5	5,5	6	5,5	5,5	5,5	5,5	6,5	4,5	5	6,5	5,5
18	Fillari orta boyu (mm)	10,5	12,5	8	8,5	10	9,5	8	8	8,5	10	14	10,3
19	Fillari iç eni (mm)	4,5	3,5	4	3	3,5	3	4	4	4,5	3	4,5	4
20	Fillari iç boyu (mm)	14	15,5	15	14,5	11	15,5	15	15,5	12	15	18	15

21	Medyan apendaj sil sayısı	11	12	13	14	12	13	15	11	10	11	10	10
22	Medyan apendaj sil boyu(mm)	3	2	3	3,5	2	4	4	3	2,5	4	2	2,5
23	Apendaj mukro uzunluğu (mm)	1,5	3	2,5	2,5	4	5	5	1,5	2	4,5	2,5	1,2
24	Merkezi Çiçek Boyu (mm)	24	26	28	22	19	26	27,5	27	22,5	25,5	27	26
25	Merkezi Çiçek Lob Uzunluğu (mm)	7	5	8	5	5,5	6	5,5	5	5,5	6	7	6
26	Merkezi Çiçek Tüp Uzunluğu (mm)	5,5	7	6,5	6,5	7	6	7	8	6,5	6,5	5,5	7
27	Aken Boyu (mm)	4,5	5,5	5,2	5	4	5	5	5,5	5	5	7	5,5
28	Aken Eni (mm)	2,8	2,5	2,2	2,2	2	2	2,5	3	2,8	2,3	3	2,3
29	Pappus İç Halka Boyu (mm)	2,5	2,5	2	1,7	3,5	2	2	2,5	3	1,5	3	2,2
30	Pappus Dış Halka Boyu (mm)	7,5	8	9	5	8	6,5	6	9	8	7,5	8	8

Çizelge 4.2 Örneklerin nitel karakterlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.1Örneklere ait morfolojik dendogram

4.4. Moleküler araştırma sonuçları

4.4.1. DNA Konsantrasyonları

Çalışılan türlere ait elde edilen DNA konsantrasyonları ve saflık derecesi ölçümleri Nano-DROP 2000 ile yapılmıştır. Örneklere ait spektral sonuçlar çizelge 4. 3'de gösterilmiştir.

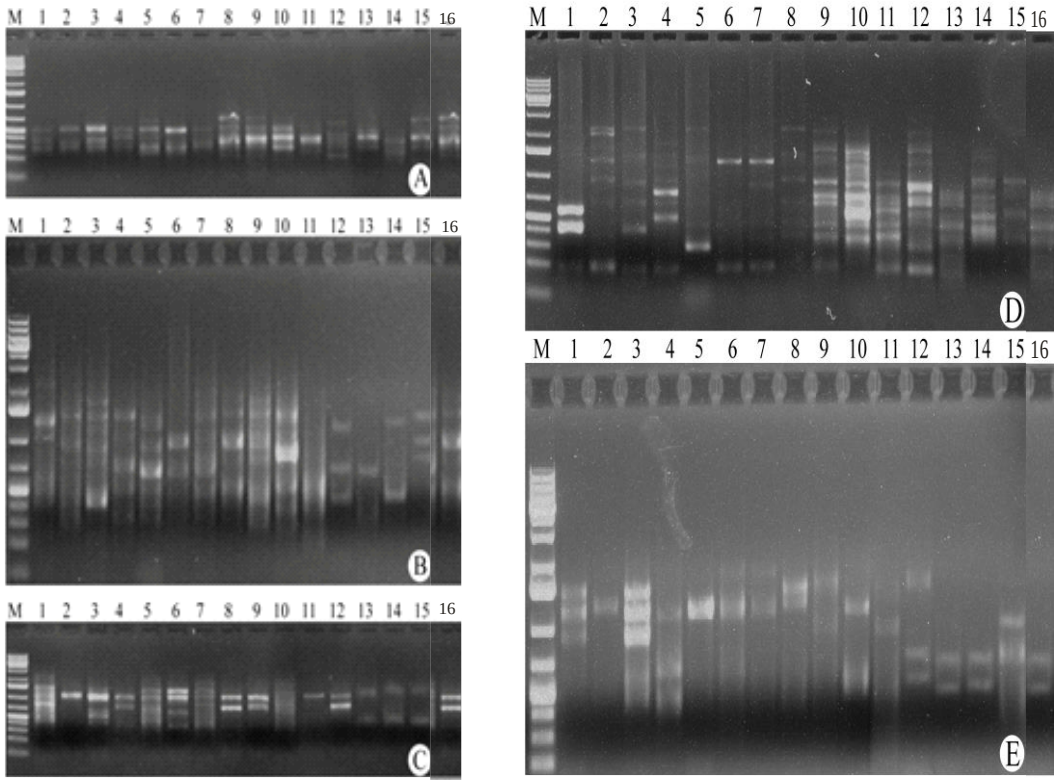
Çizelge 4. 3. Örneklerin Spektral Sonuçları

Örnek Numarası	DNA Konsantrasyonu	Birim	A260	A280	260/280	260/230	Faktör
TUAC1	340,1	ng/µl	6,802	3,325	2,05	1,32	50
TUAC2	514,5	ng/µl	10,29	5,385	1,91	1,1	50
TUAC3	311	ng/µl	6,221	3,118	2	1,65	50
TUAC4	327,3	ng/µl	6,546	3,515	1,86	0,93	50
TUAC5	667,6	ng/µl	13,352	6,868	1,94	1,56	50
TUAC6	613	ng/µl	12,26	6,506	1,88	1,19	50
TUAC7	455,8	ng/µl	9,117	4,664	1,95	1,31	50
TUAC8	344,6	ng/µl	6,891	3,462	1,99	1,49	50
TUAC9	316,6	ng/µl	6,333	3,221	1,97	1,41	50
TUAC10	491,9	ng/µl	9,839	5,177	1,9	1,12	50
TUAC11	474,7	ng/µl	9,495	4,848	1,96	2,01	50
TUAC12	265,2	ng/µl	5,304	3,069	1,73	0,87	50
TUAC13	520,7	ng/µl	10,414	5,224	1,99	1,69	50

TUAC15	285,9	ng/µl	5,718	3,03	1,89	0,93	50
TUAC16	630,7	ng/µl	12,614	8,144	1,55	0,82	50
TUAC17	325	ng/µl	6,501	3,59	1,81	1,27	50

4.4.2. PCR Amplifikasyon Sonuçları

Elde edilen temiz DNA örneklerinden PCR amplifikasyonları yapılmıştır. PCR'da çoğaltma işleminde 12 farklı primer denenmiş olup bunlardan 5 tanesi tüm örneklere cevap vermiştir. Bu primerler sırasıyla A- UBC810, B-UBC813, C-UBC820, D-UBC844 ve E-UBC852 primerleridir. Elde edilen ürünler jele yüklenmiş, monomorfik ve polimorfik bantlar skorlanarak yaklaşık 171 karakterli bir veri matriksi oluşturulmuştur. Amplifikasyon ürünlerine ait jel resmi Şekil 4.1'de verilmiştir.

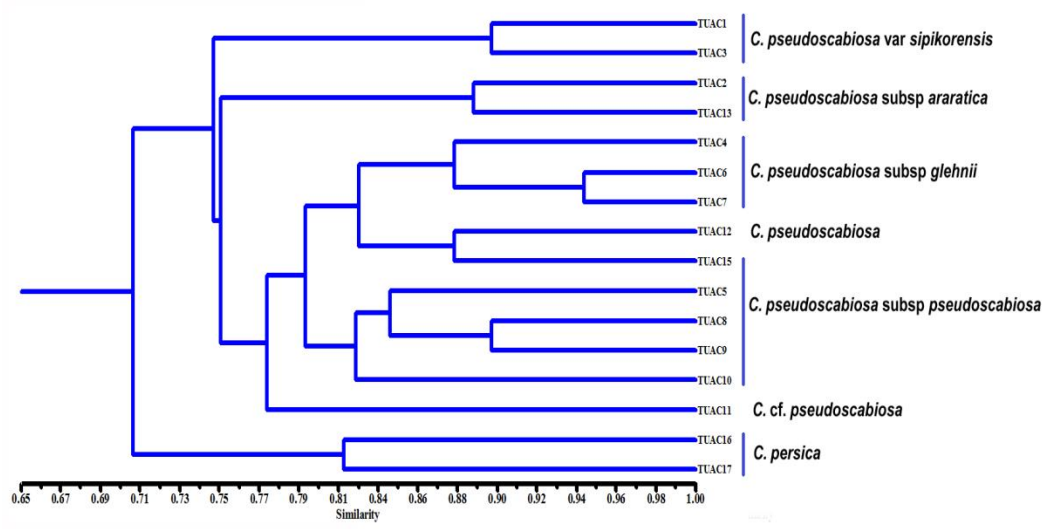


Resim 4. 5. Kullanılan primerler A. UBC 810, B. UBC 813, C. UBC 820, D. UBC 844, E. UBC 852 ve çalışılan örnkelerin amplifikasyon sonrası ürünlerine ait jel resimleri (M.Markır,TUAC1: *C.pseudoscabiosa var. spikorensis*, TUAC2 : *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*, TUAC3: *C.pseudoscabiosa var.spikorensis*,

TUAC4: *C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*, TUAC5: *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*, TUAC6: *C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*, TUAC7: *C.pseudoscabiosa* subsp.*glehnii*, TUAC8: *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*, TUAC9: *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*, TUAC10: *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*, TUAC11: *cf.C.pseudoscabosa*, TUAC12: *C.pseudoscabiosa* , TUAC13: *C.pseudoscabiosa* subsp.*araratica*, TUAC15: *C.pseudoscabiosa* subsp.*pseudoscabiosa*, TUAC16: *C.persica*, TUAC17: *C.persica*)

4.4.3. Skorlama ve Dendogram Oluşturulması

Jeller üzerindeki bantların skorlaması yapılmıştır. Skorlama işleminden sonra, NTSYSpc 2.1 (Rohlf, 1997) programı kullanılıp benzerlik indeksine göre şekil 4.2'de olduğu gibi bir dendrogram oluşturulmuştur. Burada ölçüt; bir genotipteki herhangi bir bölgedeki bandın, soyundan geldiği başka bir genotipteki ve aynı bölgedeki bant ile benzeme ihtimalinin tahmin edilmesidir.



Şekil 4.2 Türlerin ve alt türlerin genetik ilişkilerini gösteren dendogram

Moleküler verilerden oluşturulan dendograma göre incelenen 16 örnek yaklaşık % 70'lik benzerlik düzeyinde iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta *C. pseudoscabiosa* türüne yakın bir tür olan *C. persica* türüne ait iki örnek, ikinci grupta ise *C. Pseudoscabiosan'*ın alt taksonları yeralmıştır. Dendogramdaki ikinci grup yaklaşık % 74 düzeyinde iki alt gruba ayrılmış; birinci grubu Türkiye Florası'nda

sinonim olarak kabul edilen *C. pseudoscabiosa* var. *sipirokensis* örnekleri oluştururken, ikinci grupta diğer alt taksonlar yeralmıştır. *C. pseudoscabiosa* alt taksonlarını ihtiva eden grup yaklaşık % 75 benzerlik düzeyinde yeniden iki alt gruba ayrılmış, birinci alt grupta *C. pseudoscabiosa* subsp. *araratica* örnekleri yeralırken diğer alt türler diğer grupta kümelenmiştir. Bu küme yaklaşık % 77 düzeyinde iki alt gruba ayrılmış; birinci grubu Konya-Hadim, Gevne Vadisinden toplanan *C. pseudoscabiosa'*ya yakın örnekler oluştururken, diğer iki alt tür ikinci grupta toplanmıştır. Bu grup yaklaşık % 80 düzeyinde tekrar iki alt gruba ayrılmış; birinci grubu *C. pseudoscabiosa* subsp. *glehnii*'ye ait örnekler oluştururken, *C. pseudoscabiosa* subsp. *pseudoscabiosa* örnekleri diğer alt grupta yeralmıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

ISSR kombine edilmiş analiz sonuçlarımıza göre NTSYSpc 2.1 versiyon programı aracılığı ile oluşturduğumuz dendogramda *Centaurea L*. taksonlarının tür ve alttür seviyesinde yeni düzenlemelere ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Dendogram sonuçları, halen Türkiye Florasında sinonim olarak kabul edilen *C. pseudoscabiosa* var.*sipirokensis* taksonunun statüsü değiştirilip, alt tür olarak yeniden canlandırılabileceğini desteklemektedir. Ayrıca bu sonuçlar Konya, Hadim Gevne Vadisnden toplanan *C. pseudosacbiosa* örneklerinin, mevcut taksonlardan farklı olduğunu ve yeni bir alt tür olarak değerlendirilebileceğini desteklemektedir. Mevcut yayılış alanı Erzincan'dan batıya geçmeyen *C. pseudoscabiosa* taksonlarina, yüzlerce kilometre uzaklıkta, Gevne Vadisinde rastlanması oldukça ilginç bir bulgudur. Şimdiye kadar Erzincan ile Konya arasında bu türe ait herhangi bir örnek toplanamamıştır. Gevne Vadisinin izole bir yapıya sahip olması bu taksonun bölgede yaşayabilmesine imkantanımıştır. Yapılan çalışmalar *C. pseudoscabiosa* türünün alt taksonlarının kesin olarak ayrımında yeterli olmadığı kanaatindeyiz. Bu nedenle bu çalışmanın genişletilerek farklı gen bölgelerini içeren ilave çalışmalar yapılması mutlaka gerekmektedir.

KAYNAKÇA

APG, T. A. P. G., 2003, An update of the angõosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants *APG II. Botanical Journal of the Linnean Society,* 141, 399-436.

Baldwin, B. G., 1992, Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plats: an example from the Compositae, *Molecular Phylogenetics and Evolution 1*, 3-16.

Baytop, T., 1994, Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür ve Dil Tarih Yüksek Kurumu, TDK Yay. 2. baskı., In, Eds, *Ankara.*

, p. 578.

Bentham, G., 1873, Compositae. In: Bentham, G, Hooker, JD, eds. Genera plantarum. London: Lovell Reeve & Co., 162±533., *Genera plantarum*, 162±533.

.

Boissier, E., 1867-1888, Flora Orientalis, *1-4*.

Boissier, E., 1873, Flora orientalis, sive enumeratio plantarum in Orientea Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum .Geneave: H. Georg., *1*.

Bremer, K., Jansen, R. K., Karis, P. O. ve Kim, K. J., 1992, Current research on Asteraceae phylogeny and classification *Compositae Newsletter*, 20-21, 1-3.

Cassini, H., 1819, Dictionnaire de sciences naturelles. Paris. Cited by King HW 1975. , *New York: Oriole*, p.

Davis, P. H., 1965-1985, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, *Edinburgh Univ. Press Edinburgh*, 1-9.

Davis, P. H., 1975, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *Edinburgh University Press.*, 5, 465-585.

Davis, P. H. ve Hedge, I. C., 1975, "The Flora of Turkey; Past, Present and Future", Candollea, , *Candollea*, 30, 331-351

Davis, P. H., Mill, R. R. ve Tan, K., 1988a, Flora of Turkey and The East Aegean Islands (Supplement), *Edinburgh*, Edinburgh Univ. Press, p.

Davis, P. H., Tan, K. ve Mill, R. R., 1988b, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *Edinburgh University Press.*, 10, 73.

Dinç, M., Duran, A., Pınar, M. ve Öztürk, M., 2007, Anatomical and palynological investigation on endemic Teucrium sandrasicum O.Schwarz., *International symposium 7th Plant life of southwest Asia, Eskişehir, Turkey*.

Dittrich, M., 1977, Cynareae systematic review In: Heywood, V.H., Harborne, J.B., Turner B.L., (eds) The biology and chemistry of Compositae, *LondonAcademic* Academic Press, p.

Dostal, J., 1969, Taxonomickal studie o celedıch Lycopodiaceae a Asteraceae a o rodech Lycopodium a Centaurea (Studia TaxonomicaI) Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, *Facultas Rerum Naturalium, ser. 2, Biol.* , 31, 5-39.

Doyle, J. J. ve Doyle, J. L., 1990, Isolation of plant DNA from fresh tissue, p.

Dural, H., Bağcı, Y., Ertuğrul, K., Demirelma, H., Flamini, G., Cioni, P. L. ve Morelli, I., 2003, Essential Oil composition of two endemic Centaurea species from Turkey,Centaurea mucronifera and Centaurea chrysantha, collected in the same habitat, *Biochemical Systematics and Ecology 1417-1425.*, 31, 1417-1425.

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N., 2000, Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Red Data Book of Turkish Plants), *Ankara*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, p.

Ertuğrul, K., Dural, H., Tugay, O., Flamini, G., Cioni, P. L. ve Morelli, I., 2003, Essential oils from flowers of Centaurea kotschyi var. kotschyi and C. kotschyi var. decumbens from Turkey, *Flavour Frag. J.*, 18 (2), 95-97.

Ertuğrul, K., Uysal, T., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. ve Garnatje, T., 2004, Thesystematic position of Centaurea ensiformis and Centaurea isaurica from Turkey and the evolution of some characters in Centaurea, *Israel Journal of Botany*, 145, 345-352.

Flamini, G., Antognoli, E. ve Morelli, I., 2001, Two Flavonoids and Other Compounds From The Aerial Parts of Centaurea bracteata from Italy, *Phytochemistry* 57, 559-564.

Garcia-Jacas, N., Susanna, A. ve Ilarslan, R., 1996, Aneuploidy in the Centaureinae (Compositae): n=7 the end of the series., *Taxon*, 45, 39±42.

Garcia-Jacas, N., Susanna, A., Ilarslan, R. ve Ilarslan, H., 1997, New chromosome counts in the subtribe Centaureinae (Compositae, Cardueae) from West Asia, *Bot. J. Lin. Soc.*, 125, 343-349.

Güner, A., Özhatay, N. ve Ekim, T., 2000, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Supplement, *Edinburgh.*, Royal Botanic Garden, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh., p.

Hayek, A. V., 1901, Centaurea Arten Oesterreich-Ungarns. Denkschr. Kaiserl.Akad.der Wiss., *Math.-Naturwiss*, 70, 585 -773.

Hellwig, H. F., 1994, Chromosomenzahlen aus der Tribus Cardueae (Compositae), *Willdenowia* 24, 219- 241.

Hoffmann, O., 1894, Compositae In: Prantl AEK, ed. Die naturlichen Panzenfamilien, *Leipzig: Wilhelm Engelmann*, 324±333.

Holub, J., 1973, Some new nomenclatural combinations in Centaureinae (Asteraceae).Preslia, *Praha* 45, 142-146.

Kaya, Z., Başaran, S., Akkemik, Ü. ve Yaman, B., 1996, Palynological Research On Some Endemic Species of Centaurea L. In Turkey (2), *XIII. National Biology Congress, 17-20 September-1996, Istanbul-TURKEY*.

Köse, Y. B., İşcan, G., Demirci, B., Başar, K. H. C. ve Çelik, S., 2007, Antimicrobial activity of the essential oil of Centaurea aladagensis, *Fitoterapia*, 78, 253-254.

Love, A. ve Löve, D., 1961, Some nomenclatural changes in the European fora *I. Botaniska Notiser* 114, 33±47.

Özhatay, N. ve Kültür, Ş., 2006, Check list of additional taxa to the Supplement Floraof Turkey, *III. Turk J Bot* 30, 281-316.

Özhatay, N., Kültür, Ş. ve Aslan, S., 2009, Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey *IV.Turk J Bot*, 33, 191-226.

Öztürk, M. A. ve Seçmen, Ö., 1996, Bitki Ekolojisi, *İzmir.*, Ege Üniversitesi Basımevi, p.

Pehlivan, S., 1996, Light microscopic studies in the pollen morphology of some endemic Turkish Centaurea Species., *Turkish Journal of Botany, 20 (4),* 20 (4), 311-123.

Pınar, N. M. ve İnceoğlu, Ö., 1996, A Comparative Study on The Pollen Morphology of Centaurea triumfettii All. groups A, B and C with Light and Electron Microscopy, *Turkish Journal of Botany* 20, 395-398.

Rohlf, J., 1997, NTSYS-pc.Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.8. Exeter Software (NY, USA).

Romaschenko, K., Ertuğrul, K., Susanna, A., Jacas, N. G., Uysal, T. ve Arslan, E., 2004, New Chromosome Counts In The Centaurea Jacea Group (Asteraceae, Cardueae) And Some Related Taxa, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 3, 145, 345 - 352.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E., 2004, Tohumlu Bitkiler Sistematigi,, *İzmir*, Ege Üniversitesi Basımevi, p. 283-292.

Soltis, D. E., Collõer, T. G. ve Edgerton, M. L., 1991, The Heuchera group (Saxifragaceae): Evidence for chloroplast transfer and paraphyly., *Amer.J.Bot.* , 1091-1112, 1091-1112.

Soltis, D. E., Soltis, P. S., Nickrent, D. L., Johnson, L. A., Hahn, W. J., Hoot, S. B., Eweere, J. A., Kuzoff, R. K., Kron, K. A., Chase, M. W., Swensen, S. M., Zimmer, E. A., Chaw, S. M., L J Gillespie, Kress, W. J. ve Sytsma, K. J., 1997, Angiosperm Phylogeny inferred from 18 S ribosomal DNA sequences *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84, 1-49.

Susanna, A., Garcia-Jacas, N., Soltis, D. E. ve Soltis, P. S., 1995, Phylogenetic relationships in tribe Cardueae (Asteraceae) based on ITS sequences, *American Journal of Botany* 82, 1056-1068.

Susanna, A., Garnatje, T. ve Garcia-Jacas, N., 1999, Molecular phylogeny of Cheirolophus (Asteraceae: Cardueae-Centaureinae) based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA, *Plant Systematics and Evolution* 214, 147-160.

Timothy, G., 2001, Barraclough and Sean Nee, Phylogenetics and speciation, *TRENDS in Ecology & Evolution*, 16, 7.

Tokur, S., Zeybek, N. ve Kesercioğlu, T., 1988, "Bitki Tayininde Sitotaksonominin Önemi", *Anadolu Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Dergisi*, 1 (2), 17-23.

Uysal, T., Romashchenko, K. Y., Suarez, V. N. S., Ertuğrul, K., Susanna, A. ve Garcia-Jacas, N., 2005, ITS phylogeny of the genus Centaurea: The Jacea Group, *17. Uluslararası Botanik Kongresi, 18-23 Temmuz, Viyana.*

Uysal, T., Çelik, S. ve Menemen, Y., 2008, "Morphology, Anatomy, Ecology, Pollen and Achene Features of Centaurea polyclada DC. (Sect. Acrolophus) in Turkey", *J. Biological Science*, 5 (2), 176-180.

Uysal, T., Özel, E., Ertuğrul, K. ve Bozkurt, M., 2012, Determination of Genetic Relationship among Cheirolepis (Centaurea/ Asteraceae) Section and its Relatives in Turkey *Research Journal of Biology*, 2(3), 104-109.

Wagenitz, G., 1975, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, *Edinburgh.*, Edinburgh Univ. Press, p. 465-585.

Wagenitz, G. ve Hellwig, F. H., 1996, Evolution of characters and phylogeny of the Centaureinae. In:Hind DJN, Beentje HG, eds. Compositae: Systematics., *Proceedings of the International Compositae Conference,Kew, Royal Botanical Gardens, 491.510.*, 491-510.

Wagenitz, G. ve Hellwing, H. F., 2000, The Genus Psephellus Cass.(Compositae, Cardueae)revisited with a broadened concept, *Willdenowia*, 30, 29-44.

Yaylı, N., Yaşar, A., Güleç, C., Usta, A., Kolaylı, S., Coşkunçelebi, K. ve Karaoğlu, Ş., 2005, Composition and antimicrobial activity of essential oils from Centaurea sessilis and Centaurea armena, *Phytochemistry*, 66(14), 1741-1745.

Yaylı, N., Yaşara, A., Yaylıa, N., Albaya, C., Aşamaza, Y., Coşkunçelebi, K. ve Karaoğlu, Ş., 2009, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Centaurea appendicigera and Centaurea helenioides, *Pharmaceutical Biology*, 47, 7-12.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A. ve Labuda, D., 1994, Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification, *Genomics* 20, 176-183.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tufan AKYÜZ
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : 26.10.1976
Telefon : 5432919860
Faks :
e-mail :

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Ünye Anadolu Öğretmen Lisesi,Ünye,Ordu	1996
Üniversite	:	Süleyman Demirel Üniversitesi ,Isparta	2000
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi	……..
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2000-2010	Özel Öğretim Kurumları	Öğretmen
2011-2014	Konya Aile ve Sosyal Politikalar İl Md.	Öğretmen
2014-2015	Karaman Halk Sağlığı Müdürlüğü	Biyolog
2015-2016	Konya Halk Sağlığı Müdürlüğü	Biyolog

UZMANLIK ALANI
Su Mikrobiyolojisi

YABANCI DİLLER
İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR*

Akyüz, T.,Çevik, A., Konya ve Yöresindeki İçme ve kullanma *Sularındaki Escherichia coli, C.perfringes*, Enterokok grubu, Koliform grubu bakteri Yönünden incelenmesi. 4.. Uluslar arası Katılımlı Toprak ve Su Kaynakları Kongresi 01-04 Eylül 2015, Kahramanmaraş bildiri özet kitabı: Sayfa 38.

Akyüz, T., Khorsheda,A., Arslan, E.,.Konya ve İiçelerinde İçme Sularında GSBLL (GENİŞ SPEKTRUMLU B-LAKTAMAZ) *Üreten E.ccoli*'lerin Belirlenmesi ve Antibiyotik Duyarlılıkları . 4.. Uluslarası Katılımlı Su ve Sağlık Kongresi 26-30 Ekim 2015, Antalya bildiri özet kitabı: Sayfa 468-469.

Akyüz,T., Ertuğrul, E., Bozkurt, M., Uysal, T., 2016, The Molecular Characterisation of *Centaurea pseudoscabiosa* and Its Subspecies By ISSR markers, Second Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2016)**,** Antalya, Türkiye