



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE *ECHINOPS* L. (ASTERACEAE) CİNSİ *OLİGOLEPİS*
SEKSİYONUNA AİT TAKSONLARIN 2C DNA MİKTARININ
BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Handan ŞAPCI**

**Danışman
Doç. Dr. Cem VURAL**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2011
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE *ECHINOPS* L. (ASTERACEAE) CİNSİ *OLIGOLEPIS*
SEKSİYONUNA AİT TAKSONLARIN 2C DNA MİKTARININ
BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Handan ŞAPCI**

**Danışman
Doç. Dr. Cem VURAL**

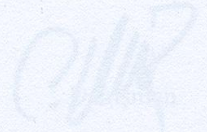
**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FBY-11-3323 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2011
KAYSERİ**

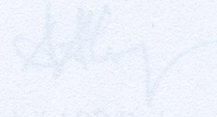
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Handan ŞAPCI

İmza :



Doç. Dr. Cem YURAL



Psikiyoloji ABD Başkanı
Prof. Dr. Ahmet AKSOY

“Türkiye *Echinops* L. (Asteraceae) cinsi *Oligolepis* seksiyonuna ait taksonların 2C DNA miktarının belirlenmesi“ adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Handan ŞAPCI



Doç Dr. Cem VURAL



Biyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Ahmet AKSOY

Doç. Dr. Cem VURAL danışmanlığında **Handan ŞAPCI** tarafından hazırlanan “**Türkiye *Echinops L. (Asteraceae)* cinsi *Oligolepis* seksiyonuna ait taksonların 2C DNA miktarının belirlenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

23 / 12 / 2011

JÜRİ:

Danışman :Doç Dr. Cem VURAL
 Üye :Prof. Dr. Coşkun TEZ
 Üye :Doç. Dr. Dilek DEMİREZEN YILMAZ

C. Vural
Coşkun Tez
Dilek Demirezen Yılmaz

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 03/01/2012 tarih ve 0-0 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez konumu belirleyen, teşvikleri ile yurt dışına gitmemi sağlayan, bana inanılmaz deneyimler kazandıran bilgi, öneri ve yardımlarını asla esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Cem VURAL' a çok teşekkür ederim.

Yurt dışındaki çalışmalarım süresince her türlü gereksinimlerimi karşılayan engin bilgi, tecrübe ve imkânlarını benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Elwira Sliwinska' ya ve laboratuvarlarını paylaşan Dr. Iwona Jedrzejczyk, Monika Rewers, Agata Bator ve Aleksandra Chomacka' ya tek tek teşekkür ediyorum.

Bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Coşkun TEZ ve Yrd. Doç. Dr. Servet Özcan hocama ve varlıkları ile bana destek olan laboratuvar arkadaşlarım Dilek Ceylan, Güler Toprak, Uzm. Osman İbiş, Metin Kılıç, Dilek Dabanlı, Tuğba Dişyapar, Ebru Karadaş, Murat Telcioğlu' na teşekkür ederim.

İhtiyacım olduğu her an yanımda olan canım arkadaşım, Matematik Bölümü yüksek lisans öğrencisi Beyhan Uzunoğlu ve çalışmamın istatistiksel analiz kısımlarında yardımlarını esirgemeyen canım arkadaşım İstatistik bölümü yüksek lisans öğrencisi Gözde Ertürk' e çok teşekkür ederim.

Çalışmama maddi olarak FBY-11-3323 kodlu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve Erciyes Üniversitesi Biyoloji bölümünde bulunan hocalarıma ve arkadaşlarıma katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen, her şeyden değerli annem Nuran Şapcı, babam Burhan Şapcı ve canım kardeşim İlayda Melis Şapcı' ya çok teşekkür ederim.

Handan ŞAPCI

Kayseri, Aralık 2011

**TÜRKİYE *ECHINOPS* L. (ASTERACEAE) CİNSİ *OLIGOLEPIS*
SEKSİYONUNA AİT TAKSONLARIN 2C DNA MİKTARININ
BELİRLENMESİ**

Handan ŞAPCI

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2011

Danışman: Doç. Dr. Cem VURAL

KISA ÖZET

Bu çalışmada, *Echinops* cinsinin *Oligolepis* seksiyonuna ait üç, *Echinops* ve *Ritropsis* seksiyonlarından da birer türün DNA miktarları, flow sitometri tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan türlerin 2C DNA miktarı 5.549 pg ile 9,166 pg arasında bulunmuştur. Bu taksonlar arasında 2C DNA değerleri arasında çok büyük farklılıklar olmadığından dolayı türlerin diploid olduğunu düşünülmektedir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, genom miktarı ile türlerin yaşadıkları yükseklikler ve tohum boyutları arasında önemli bir ilişki yoktur. *Oligolepis* seksiyonu içerisinde 2C DNA miktarları, atasal tür olarak belirlediğimiz edilen *E. melitenensis*' den grubun en modern türü olan *E. phaeocephalus*' a doğru bir artış göstermektedir. Bu çalışmayla, *Echinops* cinsine ait *E. melitenensis*, *E. phaeocephalus*, *E. dumanii* ve *E. ritro* türlerinin nuklear DNA miktarı ilk kez belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 2C DNA, *Oligolepis*, *Echinops*, Türkiye.

**DETERMINATION OF 2C DNA CONTENTS OF *OLIGOLEPIS* SECTION
GENUS OF *ECHINOPS* (ASTERACEAE) IN TURKEY**

Handan ŞAPCI

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, December 2011

Supervisor: Association Prof. Dr. Cem VURAL

ABSTRACT

In this study, nuclear DNA content has been estimated using flow cytometry for section *Oligolepis* (three species), section *Echinops* (*E. ritro*) and section *Ritropsis* (*E. orientalis*) of *Echinops* (Asteraceae). 2C DNA content of studied species values ranged from 5,549 pg to 9,166 pg. 2C DNA values of these taxa, as there are not huge differences, we think that these taxa are diploid. According to statistical analysis results, correlation of genome size with altitude and seed length of species was not significant correlation. 2C DNA value has been increasing from *E. melitenensis*, considered as ancestral species in section *Oligolepis*, to *E. phaeocephalus*, the most modern species in this section. The nuclear DNA amount of *E. melitenensis*, *E. phaeocephalus*, *E. dumanii* and *E. ritro* was determined for the first time in this study.

Keywords: 2C DNA, *Oligolepis*, *Echinops*, Turkey.

İÇİNDEKİLER

TÜRKİYE *ECHINOPS* L. (ASTERACEAE) CİNSİ *OLIGOLEPIS* SEKSİYONUNA AİT TAKSONLARIN 2C DNA MİKTARININ BELİRLENMESİ

Sayfa

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZ	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii

GİRİŞ	1
Flow sitometrinin avantajları	3
Flow sitometrinin dezavantajları.....	4

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. C-Değeri ve Genom Miktarı.....	6
1.2. Asteracea familyasının taxonomisi	8
1.3. <i>Echinops</i> L.	9

1.4. <i>Oligolepis</i> Seksiyonunun Genel Özellikleri	10
1.5. <i>Oligolepis</i> Seksiyonunun Tür Teşhis Anahtarı.....	11
1.6. <i>Oligolepis</i> seksiyonuna ait türlerin morfolojik özellikleri	11
1.6.1. <i>Echinops phaeocephalus</i>	11
1.6.2. <i>Echinops dumanii</i>	13
1.6.3 <i>Echinops melitenensis</i>	14

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Bitkisel Materyal	17
2.2. Bitkilere Ait Tohumların Toplanması.....	17
2.3 Bitki Tohumlarının Çimlendirilmesi ve Büyütülmesi	18
2.4.Nükleer DNA miktarlarının belirlenmesi.....	20
2.4.1. DNA izolasyon tampon	21
2.4.2. Galbraith tamponu	21
2.4.3. Filtrasyon	22
2.4.4. Cihazın kalibre edilmesi ve standart seçimi	22
2.4.5. Kalite kontrolü ve veri sunumu	22
2.5. İstatistiksel Analiz	23

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. <i>Oligolepis</i> Seksiyonu.....	24
3.1.1. <i>Echinops phaeocephalus</i>	24
3.1.2. <i>Echinops melitenensis</i>	26
3.1.3. <i>Echinops dumanii</i>	27
3.2. <i>Ritropsis</i> Seksiyon.....	29
3.2.1. <i>Echinops orientalis</i>	29
3.3. <i>Echinops</i> Seksiyonu.....	30
3.3.1. <i>Echinops ritro</i>	30

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1 Tartışma 34

4.2. Sonuç ve Öneriler 37

KAYNAKLAR 39

ÖZGEÇMİŞ

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Çalışmada yer alan türlerin lokaliteleri.....	18
Tablo 3.1. <i>Echinops phaeocephalus</i> türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları	25
Tablo 3.2. <i>Echinops melitenensis</i> türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.....	26
Tablo 3.3. <i>Echinops dumanii</i> türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.	28
Tablo 3.4. <i>Echinops orientalis</i> türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.	29
Tablo 3.5. <i>Echinops ritro</i> türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.	31
Tablo 3.6. Spearman's rho korelasyon testi sonuçları	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. <i>Echinops phaeocephalus</i> 'un çiçekli ve meyvede iken fotoğrafları	12
Şekil 1.2. <i>Echinops dumanii</i> 'nin habitus fotorağı.....	14
Şekil 1.3. <i>Echinops melitenensis</i> 'in habitus fotoğrafı	15
Şekil 2.1. Bitkilerin çimlendirilme safhası.....	20
Şekil 2.2. Bitkilerin büyütüldüğü yetiştirme dolapları.....	21
Şekil 3.1. <i>E. phaeocephalus</i> cinsine ait histogram.....	25
Şekil 3.2. <i>E. melitenensis</i> cinsine ait histogram.....	27
Şekil 3.3. <i>E. dumanii</i> türüne ait histogram.....	29
Şekil 3.4. <i>E. orientalis</i> türüne ait histogram.....	30
Şekil 3.5. <i>E. ritro</i> türüne ait histogram.....	31

GİRİŞ

Flow sitometri (FCM) izole edilmiş partiküllerin (hücre, çekirdek veya kromozomlardan) optik karakterlerinin ölçülmesi için kullanılan bir metot olarak tanımlanabilir. Bu teknik ilk olarak 1960-1970' li yıllarda biyomedikal uygulamalarda (örneğin kan hücrelerinin hızlı sayımı ve analizi gibi) kullanılmak üzere geliştirilmiştir [1]. Son 30 yıl boyunca, çok yönlü kullanılabilmesi ve yeni boyama yöntemlerinin de keşfedilmesiyle, canlı biliminin çok geniş alanlarına yayılmıştır. Günümüzde FCM, rutin bir şekilde klinik teşhislerde, biyoteknolojide temel ve uygulamalı araştırmalarda (immünoloji, moleküler biyoloji, genetik, farmakoloji, zooloji, deniz biyolojisi ve botanik) kullanılmaktadır. Bu tekniğin kullanışlı olmasının sebebi, geniş araklıklarda eş zamanlı olarak kaydedilebilen parametrelerin elde edilebilmesi ve bu parametrelerin popülasyon içerisindeki dağılımlarının nasıl olduğu hakkında bize fikir verebilmesidir.

Flow sitometri hücredeki (boyut, şekil, tanesellik özelliği, olası membran, hücre döngüsü, apoptosis) ve hücre içindeki (DNA ve RNA içerikleri, temel bileşenleri, protein içeriği, hücre içi pH, kalsiyum konsantrasyonları, kromozom boyutları, vb.) çeşitli karakterlerin tanımlanabilmesine imkân verir [2, 3]. FCM' nin kendi kullanım alanları içerisinde bir kıyaslama yapıldığında, bitki bilimindeki FCM uygulamalarının insan ve hayvan biyolojisindeki FCM çalışmalarına nispeten oldukça geride kaldığı görülür [4]. Literatüre bakıldığında, bu teknolojiden yararlanılarak yapılan ilk çalışma 1973' de yayınlanmasına rağmen [5], bu teknik 1980' lere kadar sadece birkaç laboratuarda kullanılmıştır. Bu gecikme çoğunlukla tek partikül süspansiyonunun gerekliliğinden kaynaklanır. Bitki hücrelerinin büyük çoğunluğu katı içinde birleşmiş, üç boyutlu dokular olduğundan dolayı, izolasyonları için bir metot geliştirilmesi

gerekmektedir. Bu amaçla, analizlerde kullanmak için hücre duvarının enzimatik sindiriminden sonra elde edilen protoplastların kullanımı öncelikli olarak tercih edilmiştir. Ancak plazma membranı, DNA-spesifik florokromlar için geçirgen değildir. Bu sebepten etanol/asetik asit fiksasyonu gereklidir [4]. Ayrıca, sitometrik ölçümler sırasında karşılaşılan bazı zorluklar da vardır. Bu zorluklar sitoplazmik DNA' nın varlığındaki çeşitli kalıntılar (nişasta tanecikleri gibi), doğal florokromların yüksek muhteviyatı (klorofil gibi) ya da çekirdeğin yerinin belirlenememesi (büyük vakuollerin varlığı nedeniyle) gibi nedenlerden kaynaklanır [4, 6]. Ancak sözü edilen engeller, nükleusun izole edilmesi ile elimine edilebilir. İyonik olmayan deterjan ürünlerinin varlığında protoplastın parçalanması ile nükleus, flow sitometri için uygun hale getirilebilmektedir [7]. Bu yaklaşım rutin olarak birkaç laboratuarda çalışılmasına rağmen örnek hazırlama zahmetli bir iş olduğu için tam olarak ilerletilememiştir. Flow sitometrideki asıl büyük ilerleme, 1983 yılında David Galbraith ve onun çalışma arkadaşlarının bitki dokularından nükleusun mekanik izolasyonu için basit ve hızlı bir metodu bulması ile olmuştur [8]. Bitki dokuları, iyonik olmayan deterjan ve florokrom ilave edilmiş Galbraith çözeltisi denilen bu hipotonik solusyon içerisinde keskin bir jilet ile parçalanarak DNA' yı izole etmekte kullanılmıştır. Şimdiye kadar da bu teknik, bitki flow sitometrisinde örnek hazırlama için en çok tercih edilen metot olarak kalmıştır.

C-Nüklear DNA miktarlarının belirlenmesi türlerin tanımlanmasına ve aynı zamanda bir cinse ait türler arasında farklılık göstermesinden dolayı, DNA miktarları genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılabilen önemli karakterlerden biridir. Yakın akraba türlerde, DNA varyasyonlarının kökenini, değişikliklerin yönünü ve bu değişikliklerdeki DNA' nın fraksiyonlarını bilmek önemlidir [9]. Ayrıca DNA miktarlarının bilinmesi, tarım ile ilgili özellikleri geliştirmesi için önemli parametrelerden biridir. Çünkü DNA miktarları ile tohum boyutları, yaprak genişliği ve uzunluğu arasında ki korelasyonlar görülebilmektedir [10].

Flow sitometri DNA miktarlarındaki küçük farklılıkları belirleyebilen, kolay (bitki materyali hazırlama), hızlı, kesin ve hatasız bir yöntemdir [11-18]. C-değerlerinin belirlenmesi florokromlarla boyanmış nükleus ve DNA miktarları arasındaki linear ilişkiye dayanır. Flow sitometri ölçümleri için çoğunlukla taze ve genç yapraklar

kullanılır. Bu materyali elde etmek kolaydır ve yüksek kararlılık gösteren histogramlar verir. Ayrıca genç yaprakların hücrelerinin büyük bir kısmı hücre döngüsünün G₀/G₁ fazında olması ve bu fazdaki hücrelerin nuklear DNA miktarları karakteristik olarak kabul edilmesinden dolayı, flow sitometrik ölçümler için genç yapraklar tercih edilmektedir [18].

Flow sitometrinin avantajları

Flow sitometri, kromozom sayma bakımından önemli birkaç avantaja sahiptir. Bunlar kısaca şöyle özetleyebiliriz;

Örnek hazırlama oldukça kolay ve pratiktir. Örnekler sadece birkaç dakikada analiz için hazırlanabilmektedir. Örneklerin ölçümleri de çok hızlı bir şekilde yapılabilmektedir. Bu tekniğin hızlı olması sayesinde, çok sayıda örnek bir gün içerisinde çalışılabilmektedir.

FCM analizleri DNA miktarındaki en küçük varyasyonların belirlemesine imkân verebilmektedir.

Bu tekniğin kazandırdığı en önemli özelliklerinden biri de çok küçük miktarlardaki örneklerle analizlerin yapılabilmesine olanak tanımasıdır. Bu da nadir ve tehlike altındaki türlerin popülasyonunun azalmasına ya da tahrip olmasına yol açmadan kapsamlı çalışmalar için büyük bir avantajdır.

Genç yapraklar nukleus izolasyonu için çoğunlukla kullanılmasına rağmen, diğer bitki kısımları da kullanılabilmektedir. Örneğin kök, gövde, sepal, petal ya da tohumlar analizlerde kullanılabilir. Alışılmış karyolojik çalışmaların yanı sıra, mitotik olarak aktif hücreler FCM çalışmalarında vazgeçilmez değerlerdir.

FCM aynı zamanda, karışık örnekleri belirlemek için de elverişlidir. Her partikül ayrı bir floresana duyarlı olduğundan dolayı, iki ya da daha fazla pik örnek içerisindeki çeşitliliği gösterecektir.

Son olarak da bu teknik, çalışma maliyetinin düşük olması bakımından bir avantaja sahiptir.

Flow sitometrinin dezavantajları

Diğer analitik metotlar gibi FCM' nin de bazı sınırları vardır. Bunların en önemlilerinden biri taze bitki materyalini gerektirmesidir. Örneklerin analiz edilebilmeleri için olabildiğince taze olmaları gerekir. Bu problemin bitkilerin çoğunun +4 C°' de saklanılabılır olması ve ethanol ya da ethanol asetik asit gibi fiksatiflerin kullanılmasıyla üstesinden gelinebilmektedir. Klasik kromozom çalışmaları anoploid bitkilerle ya da ilave (=B) kromozomlarına sahip olan bireyler ile yapılan analizlerde flow sitometriden daha üstündür. Çünkü Flow sitometri ile tek bir kromozomu belirleme şansı yaklaşık 25 kromozomdan daha az kromozoma sahip olan türleri sınırlandırır (Çünkü bir kromozomun hacmi yaklaşık olarak %' 4 e eşittir). Ayrıca, nükleus izolasyonu ve boyama bazı vasküler bitkilerde ciddi problemlere yol açarlar. Bunlar çoğunlukla taninlerin, yapışkanlı bileşenlerin ya da organik asitlerin yüksek konsantrasyonlarının varlığı ile ilişkilidir.

Bir türün DNA miktarlarının belirlenmesi, özellikle morfolojik özellikleri için yorum yapmanın zor olduğu ya da morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu ve daha gelişmiş düzeylerde deneyler gerektiren türlerin belirlenmesi için oldukça önemlidir.

Türkiye Florası yazımı sırasında toplanan çok sayıda materyal teşhis edilirken de sadece morfolojik karakterlerin değerlendirilmesinden dolayı pek çok taksonomik problemlerle karşılaşıldığı görülmektedir. Başta çok tür içeren cinsler olmak üzere birçok cinsin bazı türlerinde, hatta seksiyonlarında açıklığa kavuşturulamamış taksonomik sorunlar vardır. Floranın yazımı esnasında sınırlı zaman ve materyal ile çalışıldığı için çoğu cins veya seksiyonlardaki eksiklikler florada belirtilmiş, ancak çözüm getirilememiştir. Bu durumda olan cinslerin problemleri saptanarak üzerinde daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği flora editörünün bazı yayınlarında da kaydedilmiştir [19, 20]. Bu problemli cinslerin arasında Asteraceae familyasından *Echinops* L. cinsi de bulunmaktadır. Bu çalışma ile *Echinops* L. cinsi *Oligolepis* seksiyonuna ait türlerin evrimleri ile ilgili ipuçları elde edilecektir. Türkiye'nin biyolojik çeşitliliğine, çevre ve canlı koruma stratejilerine, çalışılan taksonlar seviyesinde ciddi anlamda bilimsel veri sağlanacaktır. Morfolojik verilerle çözilemeyen filogenetik ilişkilerin belirlenmesi için moleküler tekniklerinden DNA içeriklerinin belirlenmesinin kullanılabılır olup

olamadıkları hakkında türler arası düzeyde fikir edinilecektir. Çalışma neticesinde, türlerin 2C DNA miktarlarından yararlanılarak türler arasındaki akrabalık ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. C-Değeri ve Genom Miktarı

Toplam (nüklear) DNA miktarı, tüm canlı organizmaların önemli bir özelliğidir. Bu miktar C-değerinin iki katına denk gelmektedir. C-değeri ise; çoğaltılmamış haploit nükleusdaki DNA miktarı başka bir deyişle; organizmanın sahip olduğu toplam DNA miktarının yarısı (Taksonların ploidi seviyesi ne olursa olsun) olarak adlandırılır [21]. Monoploid kromozom setinin DNA miktarı (poliploidlerde) genom miktarı olarak isimlendirilir. Genom miktarı polyploid organizmalarda şu formülle hesaplanır: $2C\text{-değeri}/\text{ploidi seviyesi}$. Yani, C-değeri diploid türlerde genom miktarına eşit, fakat poliploidlerde her zaman genom miktarından daha büyüktür. Hem C-değeri hem de genom miktarı pikogram ($=10^{-9}$ g) ya da megabazçiftleri (1 pg=978Mbp) olarak ifade edilir [22].

Bitkiler âleminde C-değerlerinin geniş varyasyonları bulunmaktadır [23]. En düşük 1C-değeri 0,16 pg ile *Arabidopsis thaliana*' da (Brassicaceae) bulunurken, en yüksek 1C değeri 127,4 pg ile *Fritillaria assyriaca*' da (Liliaceae) bulunmaktadır. Görüldüğü üzere iki değer arasında yaklaşık 800 kat fark bulunur.

Bitkiler âleminde rastlanılan en küçük C-değerinden daha küçük değerler rapor edilmesine rağmen (örn. *Cardamine amara*' da 0,05 pg' dır.), bu değerlerin hatalı olduğu düşünülmektedir. Sonraki araştırmalar da bu analizlerin hatalı olduğu doğrulanmaktadır [24]. Angiospermilerin yaklaşık olarak % 1,4 ünün C-değerleri bilinirken, son yıllarda yapılan çalışmalar ile bu oran gittikçe artmaktadır [25-31]. Ayrıca İngiltere Kraliyet Botanik Bahçesi (KEW)' ne ait internet sitesinde yaklaşık 6,805 kara bitkisi türünün C-değerlerine ulaşılabilmektedir [32].

C-değerini etkileyen en önemli özellikler hücrelerin ve çekirdeğin boyutu iken aynı zamanda mitoz ve mayoz hücre bölünmelerinin süreleri de önemli kabul edilir [33-37]. Bu kapsamda, pek çok araştırmacı daha büyük genomun ve daha büyük hücrelerin daha yavaş büyüme eğiliminde olduğunu ve daha küçük genom ve hücrelerinde daha hızlı büyümeye izin verdiğini iddia etmektedirler, ki bu da, önemli ekolojik ve evrimsel etkilere neden olmaktadır.

Yapılan literatür araştırmaları neticesinde çalışmamızda yer alan *Oligolepis* Bunge seksiyonuna ait türlerle ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak *Echinops* cinsinin dâhil olduğu Asteraceae familyasında ya da diğer familyalarda aynı yöntemin kullanıldığı benzer çalışmalar bulunmaktadır. Jedrzejczyk ve Sliwinska (2010), Rosaceae familyasına ait 11 türü propidium iyodür boya inhibitörlerinin yüksek konsantrasyonlarında her bir türün tohumlarını ve yaprak kısımlarını kullanarak genom miktarlarını hesaplamıştır. Her tür için nukleus izolasyon tamponunda antioksidanların konsantrasyonunu ve kompozisyonu optimize edilmesine rağmen yapraktaki sitozolik bileşenlerin varlığının etkisinden tam olarak kaçınamamışlardır. Ancak türlerin tohumlarının hiç birinde inhibitör bulunmadığı görülmüş ve kaliteli histogramlar elde edilmiştir. Çalışmaları sonucunda 11 Rosaceae türünün genom boyutlarını 1.15-3.17 pg/2C olarak bulmuşlardır [38]. Mazzella *et al.* (2010), flow sitometri tekniği kullanılarak Asteraceae familyasının Gnaphaliea tribusuna dâhil olan *Achyrocline* cinsinin 2C değerlerini ölçmüştür. Analizleri sonucunda *Achyrocline* cinsine ait türlerin 2C DNA miktarlarını 5.73-6.03 pg aralığında bulmuştur [39]. Chrtek *et al.* (2009) tarafından vasküler bitkilerin karışık gruplarından biri olan *Hieracium* altcins *Hieracium* (Asteraceae)' un genom boyutu filogenetik çerçevede analiz edilmiştir. Genom boyutu ve ploidi ilişkileri değerlendirilmiştir. Haploid ve monoploid genom boyutları (C- ve Cx- değerleri) 89 popülasyona ait 215 kültür bitkisinde propidium iyodür flow sitometri tekniği kullanılarak belirlenmiştir [40]. Dydak *et al.* (2009), *Centaurea* (Asteraceae) cinsine ait üç türün (*C. jacea*, *C. oxylepis*, *C. phrygia*) birkaç popülasyonunun sitogenetik analizi flow sitometri tekniği kullanarak çalışılmışlardır. Bu yöntem için çeşitli boyalar ve Fish tekniği kullanılarak genom boyutları belirlenmiştir [41]. Kheria *et al.* (2008), *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae) türünün popülasyonlarının DNA miktarlarının belirlenmesi amacıyla etkili bir metot olan flow sitometri tekniğini kullanmıştır. Bu çalışma ile türün DNA miktarlarının belirlenmesinin

yanında ploid seviyesi de belirlemişlerdir [42]. Suda *et al.*, (2007), vasküler bitkilerin taksonomik olarak çok değişken grupları arasında yer alan *Hieracium* subgenus *Pilosella* (Asteraceae)'nin habloid ve monoploid genom boyutları (C- ve Cx- değerleri) propidium iyodür varlığında flow sitometri tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında 24 türe ait 271 birey çalışılmıştır [43]. Baz kompozisyonları (AT/GC bazlarının oranı) sitometrik olarak hesaplanmıştır. Albach ve Greilhuber (2004), yaptıkları çalışmada *Veronica* cinsine ait bazı türlerin DNA miktarlarının ilişkilerini ve olası korelasyonlara doğrudan neden olan etkileri araştırmıştır [44]. Garnatje *et al.* (2004) Cardueae tribusuna ait *Echinops* cinsi (Asteraceae) bazı taksonların ve birbirine yakın bazı başka cinslerin 2C nükleus DNA içeriklerinin oranları hesaplanmış ve 1.49-16.98 pg arasında bulunmuşlardır. Çalışma sonucunda analizi yapılan taksonların DNA miktarları arasındaki ilişkiler ve moleküler filogenileri belirlenmiştir [45]. Dimitrova ve Greilhuber (2000) tarafından, Bulgaristan' dan 10 *Crepis* (Asteraceae) türü DNA flow sitometri tekniği kullanılarak analiz ettiler. Çalışmada kullanılan 10 *Crepis* türünün beşi çok yıllık, dördü tek yıllık ve diğer bir tanesi de iki yıllık bir bitki olup analizler sonucunda çekirdek DNA' larının 1C değerlerinin genel olarak çok yıllıklarınkinden tek yıllıklarınkinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [46]. Price (2000), *Helianthus annuus* (Asteraceae) türünün farklı populasyonlarına ait bireylerin yaprakları flow sitometri yöntemi kullanılarak (PI ile) 2C DNA miktarlarını 7.3 pg olarak bulmuştur [47].

1.2. Asteraceae familyasının taxonomisi

Asteraceae ya da diğer adıyla Compositae (Papatyagiller) çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır. 1100 cins ve 25000 civarında türe sahiptir [48]. Papatyagiller familyasına ait taksonlar dünyanın ekvatorial yağmur ormanları hariç, tamamına yakın kısmında görülebilirler. Yağmur ormanlarının sadece açık alanlarında az sayıda bulunurlar. *Senecio* belkide en büyük ve en geniş yayılışlı (kozmpolitan) cinstir [49]. Bununla birlikte *Aster*, *Artemisia*, *Chrysanthemum* ve *Saussurea* familyanın en büyük cinsleri arasındadırlar.

Asteraceae familyası ile ilgili ilk kayıtlara izlerine ilk kez milattan önce 500 yılında ortaya konmuş yazıtlarda rastlanmaktadır. Burada, küçük sarıçiçekli büyük ihtimalle

Linnaeus tarafından 1753’ te *Chrysanthemum indicum* olarak adlandırılmış Çin’de doğal olarak yetişen krizantem türünden söz edilir [50].

Echinops cinsi, monotipik genus *Acantholepis* ile beraber; Cardueae Cass. Tribusunun Echinopinae O. Hoffm. alt tribusunda sınıflandırılmaktadır. Cardueae tribusu involukrak braktelerinin genellikle beş halkada dizilmesi ve dikensi uçları olması; yaprakların dikenli olması; stilusun silindirik ve stigma dallanması altında şişkinlik tüyler taşıması; anter tabanlarının apandeyc bulundurması, anter filamentlerinin papilloz olması; stamenlerin tigmotropik olması ile karakterize edilir [51-53].

Türkiye Florası’ nda Davis (1975), Asteraceae familyasına ait türlerini 11 tribus altında toplamıştır. Türkiye florasında yer alan tribuslar şunlardır: Heliantheae, Inuleae, Astereae, Senecioneae, Calenduleae, Eupatorieae, Anthemideae, Arctoteae, Cardueae, Mutisieae ve Lactuceae. Vernonieae tribusun Türkiye’ de temsilcisi yoktur. *Echinops* cinsi Cardueae tribusunun Echinopsidinae alttribusunda sınıflandırılmıştır.

Bremer (1994)’ e göre, Asteroideae altfamilyası bazı istisnalar hariç gerçek ligulat (ray flowers) çiçeklere sahip oluşu, kısa loblu tubulat (disk) korollaları, cavate (eksin tabakaları arasında boş alanların bulunması) polenleri, stillus parçalarının stigmatik yüzeylerini iki kenar çizgisine ayırması bazen de uçta birleşmesi ve bazı ayırıcı sekonder kimyasallar ile karakterize edilir.

Asteraceae’ nin sınıflandırılmasında en büyük altfamilya, türlerin % 75’ inden fazlasını içeren Asteroideae’ dir. Diğer büyük altfamilyalar Carduoideae ve Cichorioideae de dâhil, her biri 2000’ den fazla tür içerirler. Geriye kalan altfamilyalar ise 1000’ den az türe sahiptir. Gymnarrhenioideae ve Hecastocleidoideae altfamilyaları ise sadece birer tür içerirler.

1.3. *Echinops* L.

Dünyada *Echinops* cinsi 125 ila 130 kadar türle temsil edilmektedir. Çoğunlukla kuzey yarıkürede olmak üzere, yoğun olarak tropik Afrika’ nın yarı nemli alanları, Kuzey Afrika’ nın yarı kurak alanları, Akdeniz havzası ve Orta Asya’ ya kadar Avrasya’ nın ılıman kuşağında yayılış göstermektedir. Genel olarak, birkaç tek yıllık tür içeren çok yıllık bir cinstir [55, 56].

Echinops cinsi üyeleri genellikle insanların yaşama ortamlarına yakın alanlarda, yol kenarlarında, kurak taşlık alanlarda, step alanlarda, az olarak da korunmuş alanlar ile dağlık bölgelerde yayılış göstermektedir. Çoğu botanikçi bu cinsin taksonlarını toplamaktan kaçınır. Çünkü *Echinops* örnekleri dikenli ve hacimli olduğundan toplaması ve preslenmesi zordur. Aynı zamanda toplanan örneklerin de kapitulumları kurudukça dağılarak muhafazası çok zor bir duruma gelmektedir. Çoğu herbaryum örneğinde rastlanılan dağılmamış kapitulumlar ise çok genç olduğundan bu örneklerin teşhisi oldukça zordur. Çünkü teşhisler olgun kapitulum özelliklerine dayanmaktadır [57, 58].

Bu cinsin Türkiye florasında 22 taksonu bulunmaktadır. Bunlardan dokuzu endemiktir. Endemik taksonların biri CR, biri EN, biri VU, ikisi LC, biri NT ve üçü DD, endemik olmayanların ise ikisi VU, üçü DD tehlike kategorisindedir. Altı taksonun durumu belli değildir [59].

Hedge (1975), Türkiye florasında *Echinops* cinsini üç seksiyon (*Echinops*, *Ritro*, *Oligolepis*) altında 16 tür olarak sınıflandırmıştır. Gemici ve Leblebici (1992) ve Vural (2010) tarafından bilim dünyasına tanıtılan yeni iki türle (*E. mersinensis* ve *E. dumanii*) beraber ülkemizde yayılış gösteren tür sayısı 18'e yükselmiştir. Son yıllarda yapılmış olan revizyon çalışması sonucunda ise bir alt tür ve 3 varyete tür seviyesine çıkarılmış, ve bir türünde sinonim olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapılan bu revizyon çalışması neticesinde beş yeni kayıt tür tespit edilmiştir. Böylece cinse ait takson sayısı, 24 tür ve bir alt tür olmak üzere 25'e ulaşmıştır. Taksonların biri CR, ikisi EN, üçü VU, ikisi LC, biri NT tehlike kategorisindedir. Bu taksonlardan yedisi endemiktir [62].

1.4. *Oligolepis* Seksiyonunun Genel Özellikleri

Sek. *Oligolepis* Bunge, Bull. Acad. Science Petersburg. 6: 400. 1863.

Tip: *E. leucographus* Bunge.

İnvolukrum brakteleri 12-15 adet, En içtekiler birleşerek sağlam, derimsi yapıda (genellikle pentagonal) tüp oluşturmuş.

1.5. *Oligolepis* Seksiyonunun Tür Teşhis Anahtarı

1. Brush kapitulum boyu kadar uzun, meyvede iken 23-26 mm
.....*E. melitenensis*
1. Brush kapitulumun yarısına kadar yada daha kısa, 7-12 mm
 2. Gövde saman renginde, dıştaki fillariler 6-8 mm, brush ortalama 7 mm
..... *E. phaeocephalus*
 2. Gövde beyaz-gri, dıştaki fillariler 9-12 mm, brush 11-14 mm *E.dumanii*

1.6. *Oligolepis* seksiyonuna ait türlerin morfolojik özellikleri

1.6.1. *Echinops phaeocephalus* Hand.-Mazz. in Ann. K. K. Naturhist. Hofmus. 27: 439. 1913, Şekil 1.1.

Tip: C8 Siirt: trockene, bebuschte Hange am Bohdan unter Sert (Siirt), 17 viii

= *Echinops bicolor* Nábělek in *Spisy Prír. Fak. Masarykovy Univ.* 52: 28. 1925 *Tip:* Mar Jakup, Prope Siirt in rubestribus, alt. Ca. 900 m, 12 vii 1910, *Nábělek* 3650. (K!).

Gövde çok sayıda bir arada, dik yada yükselici, yapraklı, soliter ya da üst tarafta 2-3 dallı, 15 mm'ye kadar kalınlıkta, 30-60 cm boyunda, hafifçe oluklu (sulcate), seyrek lanat tüylerle kaplı, kahve rengi-kızıl renkte görünür, üst kısım genellikle salgı tüylü taban glabroz, yüksek alanlardaki bireylerin gövdesi tamamen salgı tüysüz. Yaprak kenarları düzensiz, 1 cm' e kadar uzun, ince dikenli. Genel görünüşü oblong-eliptik, eliptikten ovat' a kadar değişebilir, basit, 4-7 loplu, Üst yapraklar sapsız ve hafifçe gövdeyi sarar (amplexicaule), aurikulat-kordat. Üstü yoğun salgı tüylü, alt yüzey yoğun lanat tüylü seyrek salgı tüyleri var. Salgı tüyleri damarlar üzerinde bolca bulunur. Çiçek durumu başlar çiçekte iken 5 cm' e kadar; meyvede iken 8 cm' e kadar çapa sahip olabilir. Kapitulum 16-35 mm boyunda, çiçekte ort. 16 mm boyunda ve 3 mm eninde iken meyvede ort. 8 mm' ye kadar genişler ve 35 mm' ye kadar uzar. brush seyrek, 5-12 mm. Fillariler meyvede koyu kahverengi olur, sayısı (19-)20-24, tamamı glabroz, pektinat-siliat kenarlara sahip. En dıştakiler 7 mm (meyvede 10 mm) civarında, ortadakiler genişçe obovat ort. 30 mm, en içtekiler meyvede 16-28 mm civarında, boylarının en az yarısına kadar kaynaşarak birleşmiş. Korolla koyu mavi, tüp 6-9 mm,

loplar 7,5-13 mm. Papus pentagonal şekilli, tüyleri 2-3 mm, tabanda boylarının yarısına kadar birleşik. Meyve eliptik, 15-16,5 mm boyunda, 5-5,5 mm eninde.

Çiçeklenme: Ağustos.

Yetiştirme Ortamı: Kayalık, çalılık yamaçlar, tarla kenarı, nehir kenarı.

Yükselti: 110-600 m.

Endemizm: Endemik.

Genel Yayılışı: Türkiye, Endemik. İran-Turan elementi.

Türkiye’deki yayılışı: Doğu Anadolu bölgesi, Güney Doğu Anadolu Bölgesi.

IUCN Tehlike Kategorisi: Tehlikede (EN, Endangered).



Şekil 1.1. *Echinops phaeocephalus*’un çiçekli ve meyvede iken fotoğrafları (C.Vural 4482, fotoğraflar Cem VURAL))

1.6.2. *Echinops dumanii* C. Vural in Turk J Bot 34 (2010) 513-519, Şekil 1.2.

Tip: C5 Adana: Yumurtalık 36°46'371" N, 35°45'420" E, deniz kenarı tuzlu kumullar, 1-3 m 9.ix.2008, *Cem Vural* 4738 (holotype: Herbarium of Erciyes University, isotype: GAZI, ANK, and ISTE)

Bitki çok yıllık, beyazımsı- gri renkli. Gövde tek, dik, dallı, birkaç başlı, 1 m' ye kadar, yoğun lanat ve seyrek morumsu glandular tüyler. Yapraklar; lanseolattan onlong-lanseolat' a kadar, oblong' dan oblong-lanseolat' a kadar 1-2 pinnatisekt, kenarlar geriye kıvrık ve güçlü sert tüyler; gri araknoid lanat ve nadiren bazılarında üstlerde glandular tüyler, hemen hemen hepsi beyaz yoğun aşağılarda seyrek mor glandular tüyler. Alt yapraklar petiolat, üstte subamleksikal ya da basit. Başlar; 3,5-7 cm çapında, gövdeler ve yaprakların başından sonuna kadar, grimsi-mavimsi. Kapitulum 30 mm' e kadar. Brush eşit dıştaki fillarilerden daha uzun, 11-14 mm. Fillariler; 15-18 adet; dıştakiler 9-12 mm, tüysüz spatulat-deltoid, kenarlar serrat; ortadakiler 15-25 mm, sert tüylü, ovattan lanseolata kadar, kenarlar serrat; içtekiler benzer ½' sinden daha uzun. Korolla; beyaz ya da soluk mavi. Korolla tüpleri; 10-11 mm, glandular. Korolla lobları; 8-9,5 mm. Anter tabanı; fimbriat. Akenler; 9-11 mm, sarı tüylerle çevrili, papus tüyleri; yarısına kadar birleşik.

Çiçeklenme: Ağustos-Eylül.

Yetiştirme Ortamı: tuzlu kum, tuzlu deniz kenarı ekoton alanları.

Yükselti: 1-5 m.

Endenizm Durumu: Endemik.

Genel yayılışı: Türkiye, endemik. Akdeniz elementi

Türkiye' deki yayılışı: Akdeniz Bölgesi.

IUCN Tehlike Kategorisi: Kritik seviyede tehlikede (CR, Critically Endangered).



Şekil 1.2. *Echinops dumanii*'nin habitus fotoğrafı (C.Vural 4738, fotoğraf Cem VURAL).

1.6.3. *Echinops melitenensis* Hedge & Hub.-Mor. in Notes R.B.G. Edinb. 33: 237, f. 4 (1974). Figure 23, p. 615, Şekil 1.3.

Tip: B7 Malatya: 18 km N. of Malatya, edge of wheat field, 700 m, 22 vi 1949, *Huber-Morath* 10394 (Holo Hub-Mor.)

Gövde bir, genellikle tabandan itibaren ya da üst kısımda dallanır dik ya da yükselici, yapraklı, 12 mm' ye kadar kalınlıkta, 70 cm' e kadar boylu, oluklu (ridged), oluk sırtlarında lanat, oluk içlerinde salgı tüylü. Yaprak Kenarları çok sayıda, tıknaz dikenli. Genel görünüşü alt kısımdakiler lanseolat, oblanceolat, basit pinnatifit 3-6 loplu, ya da 2-pinnatifit, üst kısımdakiler basit, ovat-triangular, pinnatifit. Üst yapraklar sapsız ve hafifçe gövdeyi sarar (amplexicaule), aurikulat-kordat. Üstü yoğun salgı tüylü ve araknoid tomentoz, alt yüzey yoğun lanat tüylü seyrek salgı tüyleri var. Salgı tüyleri damarlar üzerinde belirgince bulunur. Çiçek durumu başlar 4,5-5,5 cm, çapta. Kapitulum 20-28 mm boyunda, çiçekte ort. 20 mm boyunda iken, meyvede 28 mm' ye kadar uzar. brush yoğun ve belirgin, bitki çiçekte iken 10 mm, meyvede 30 mm' ye kadar uzar (kapitulum boyunu geçer). Fillariler 1-20, En dıştakiler 7-8 mm uçta küçük salgı tüylü, ortadakiler araknoid 15-20 mm en içtekiler meyvede 10-16 mm civarında, boylarının en az yarısına kadar kaynaşarak birleşmiş. Korolla soluk mavi, tüp 6,5-7,5 mm, loplar 6,5-9 mm. Papus pentagonal şekilli, tüyleri 2-3 mm, tabanda boylarının yarısına kadar birleşik. Meyve 9-12 mm boyunda.



Şekil 1.3. *Echinops melitenensis*'in habitus fotoğrafı (C.Vural 4372, fotoğraf Cem VURAL).

Çiçeklenme: Haziran-Temmuz.

Yetiştirme Ortamı: Meyve bahçeleri, nadas tarlalar ve tarla kenarı, meşe çalılıkları.

Yükselti: 700–1400 m.

Endemizm Durumu: Endemik.

Genel yayılışı: Türkiye, endemik. İran-Turan elementi.

Türkiye’ deki yayılışı: Güney Doğu Anadolu Bölgesi.

IUCN Tehlike Kategorisi: En az endişe verici (LC, Least Concern).

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada *Echinops* cinsinin *Oligolepis* seksiyonuna dâhil olan *Echinops phaeocephalus*, *E. melitenensis* ve *E. dumanii* türlerinin tohumları çimlendirilerek kotiledondan sonra oluşan sağlıklı yapraklar materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmamız *Echinops* cinsi *Oligolepis* seksiyonuna ait türleri kapsamasına rağmen; karşılaştırma imkânı vermesi için yine ülkemizde yayılış göstermekte olan *Ritropsis* (*E. orientalis*) ve *Echinops* (*E. ritro*) seksiyonlarından birer tür daha çalışmamıza dâhil edilmiştir.

2.2. Bitkilere Ait Tohumların Toplanması

Çalışmada kullanılan tohumlar Erciyes Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Cem VURAL tarafından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerin toplayıcı numaraları Tablo 2.1’ de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Çalışmada yer alan türlerin lokaliteleri

Tür	Toplayıcı-No	Lokale
<i>Echinops phaeocephalus</i>	CV4582	C9 Cizre-Şırnak, Güçlükönak yolu, kayalık yamaçlar, 42°10.857N, 37°23.404'E, 404 m, 06 viii 2008.
<i>Echinops melitenensis</i>	CV4473, CV-4372A, CV4369B, CV4372I, 4369C.	B7 Malatya: Malatya-Arapkir 18. km, 38°29.546'N, 38°12.936'E, 738 m, Sulama kanalı, tarla kenarları, nadas tarlalar, 05 viii 2007.
<i>Echinops dumanii</i>	CV4744	C5 Adana: Yumurtalık 36°46'371" N, 35°45'420" E, deniz kenarı tuzlu kumullar, 1-3 m 9 ix 2008.
<i>E. orientalis</i>	CV4413	A7 Sivas: Şebinkarahisar-Suşehri 34. km, 40°14.890'N, 38°06.757'E, 757 m, 22 viii 2007.
<i>E. ritro</i>	CV4476	B6 Kahramanmaraş: Ahır dağı, 1700m, yamaçlarda, 15 viii 2007.

2.3. Bitki Tohumlarının Çimlendirilmesi ve Büyütülmesi

Daha önceden elde edilen tohumlar arasından verimli olanları seçilerek çimlenme kapları içerisinde olan kurutma kâğıtları arasına yerleştirildi (Şekil 2.1). Tohumların yüzeyleri de kurutma kâğıdı ile örtüldükten sonra 50 ml su eklenerek tohum kutuları kapatıldı. 22° C' de karanlıkta çimlenmesi amacıyla inkübasyona bırakıldı. Çimlendirilen tohumlar saksılara ekilerek 22° C' de aydınlık ortamda büyümeleri sağlandı (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Bitkilerin çimlendirilme safhası.



Şekil 2.2. Bitkilerin büyütüldüğü yetiştirme dolapları (University of Technology and Life Science).

2.4 Nükleer DNA miktarlarının belirlenmesi

Nükleer DNA miktarlarının analizi için örneklerin hazırlanmasında Galbraith *et al.* (1983)' e ait protokol takip edilmiştir [8]. Bu protokolda taze bitki dokuları keskin bir bıçak ile mekanik parçalanması sağlanarak bitki dokusunun çekirdeğinin izolasyon tamponu içerisinde serbest kalması sağlanır. Ardından bu süspansiyon 50 μm ' lik naylon filtreden geçirilerek diğer büyük partiküllerden ayrılması sağlanır ve DNA' ya spesifik florokromlar ile boyanır. FCM analizi floresans yoğunluğu ile ilgili olduğundan dolayı, nükleer DNA miktarının kesin tahmini genom miktarı bilinen bir referans standart kullanımını gerektirir. Bu nedenle, çalışmamızda referans standart olarak DNA miktarı 16.19 pg olan *Secale cereale* kullanılmıştır.

Analizler için bitkilerin taze yaprakları kullanılmıştır. Yaklaşık olarak 20-100 mg yaprak bir analiz için yeterli olmaktadır.

2.4.1. DNA izolasyon tamponu

Yukarda bahsedildiği üzere, DNA izolasyonu için Galbraith tamponu kullanılmıştır [8]. Bu tamponun kompozisyonu DNA' nın tampon içerisinde yeterli miktarda serbest kalabilmesi, DNA' nın bozulmadan yapısını koruyabilmesi ve DNA birleşmelerinin engellenmesi için oldukça önemlidir. Ayrıca, bu tamponun kompozisyonu endonükleazlardan kaynaklanan bozulmaya karşı DNA korunmasında, stokiyometrik boyamada ve sitozolik bileşenlerin negatif etkilerine karşı çekirdeğin korunmasında da önemli bir fonksiyona sahiptir.

2.4.2. Galbraith tamponu;

45 mM MgCl₂

30 mM sodyum sitrat

20 mM MOPS (4-morpholinepropan sülfat)

% 0,1 (v/v, çözünen sıvının hacmi (mL) / çözeltinin hacmi (mL)) Triton X-100

pH 7,0

Bu çalışmada her bir örnekten alınan taze yaprak dokusu üzerine 1 ml Galbraith tamponu eklenildi. Bu Galbraith tamponu çalışmada kullanılmadan önce içerisine florokrom bir boya olan Propidium iodid (PI) (50 µg/ml) ve ribonükleaz A (50 µg/ml) ilave edilerek stok karışım hazırlandı. Propodium iodide (PI) flow sitometrik çalışmalarda DNA miktarları hesaplamalarında en yaygın olarak kullanılan, 488 nm uyarılan kırmızı floresana sahip bir boyadır. Galbraith tamponu, PI ve RNase' dan oluşan bu karışım örnekler üzerine eklenerek keskin bir jilet yardımıyla mekanik parçalamalar sağlandı.

2.4.3. Filtrasyon

Sitometrik ölçümler yapılmadan önce homejenatın içerisinde bulunan büyük atık parçaların ve hücre parçacıklarının uzaklaştırılması amacıyla 50 µm' lık naylon filtre kullanılarak süzme işlemi yapılarak bu fazla kısımlar elimine edildi.

2.4.4. Cihazın kalibre edilmesi ve standart seçimi

Örneklerin hazırlanması ve boyanmasına özen gösterilmesine ek olarak, çalışmanın güvenilirliği için cihazın da iyi bir şekilde ayarlanması gerekmektedir. Bu amaçla altın bitki olarak adlandırılan "*Pisum sativum*" bitkisinin taze yapraklarının DNA' sı izole edilerek kullanıldı [8]. Bu bitkinin ölçümleri sonucunda verimsizlik katsayısı (CV) % 2-2,5 olduğu anda çalışmaya başlandı.

Flow sitometri çalışmalarında en uygun standart tür seçimi yapılırken bazı kriterler vardır: Biyolojik benzerlik, genom miktarı, C-değerinin güvenilirliği gibi. En ideal referans standardın biyolojik olarak benzer olması ve örneğimizden farklı DNA miktarına sahip olması gerekir. Bu kriterler göz önüne alınarak çalışmamızda referans standart olarak DNA miktarı 16.19 pg olan *Secale cereale* kullanılmıştır.

2.4.5. Kalite kontrolü ve veri sunumu

Her bir analiz için genellikle 5,000-10,000 adet hücre sayımı gereklidir. Çalışmamızda analizler, hücre sayısı 7,000' in altına düşmeyecek şekilde yapılmıştır.

DNA FL histogramı 2C DNA miktarına sahip olan, hücre döngüsünün G₀/G₁ safhasındaki DNA miktarını gösteren piki içerir. Bazen bu pikin yanında küçük bir pik daha oluşur. Bu küçük pikde ya G₂ fazındaki 4C DNA miktarını ya da sentez fazındaki yeni DNA sentezlendiği S fazındaki DNA miktarını göstermektedir. Histogramlarda meydana gelen çeşitliliğin en önemli nedeni hücre kalıntılarıdır. İyi bir histogram bu

hücre kalıntılarını olabildiğince az içermelidir. Ayrıca simetrik G_0/G_1 ve G_2 piklerine sahip olmalıdır [63].

Histogramlardaki standarda ve örneğe ait piklerin değerleri ve içerdiği hücre miktarı Lysak ve Dolezel, (1998)' de ki standart formül kullanılarak örneğin DNA miktarı hesaplandı [64].

Örneğin 2C DNA miktarı (pg) =

[Örneğin pik değeri x Standardın hücre sayısı / Standardın pik değeri]

2.5. İstatistiksel Analiz

Türlerin DNA miktarları ile tohum boyları ve yaşadıkları yükseklikler non-parametrik “sperman’s rho korelasyon testi” yapılarak karşılaştırılmıştır. Karakterler arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığı belirlendi.

3. BÖLÜM

BULGULAR

Çalışmamızda Türkiye de yayılış gösteren *Echinops* L. cinsi *Oligolepis* seksiyonuna ait türlerin DNA miktarları flow sitometri tekniği ile belirlenmiştir. Her tür için yapılan 5' er tekrarlı ölçümlerin sonuçları Tablo 2, 3, 4' de gösterilmiştir. Ayrıca bu ölçümler sonucu elde edilen histogramlarda aşağıda verilmiştir (Şekil 6, 7, 8). *Ritropsis* (*E. orientalis*) ve *Echinops* (*E. ritro*) seksiyonlarından çalışmamıza dâhil edilen türlere ait analiz sonuçları Tablo 5 ve 6' da yer almaktadır. Analizler sonucu elde edilen histogramlarda aşağıda Şekil 9 ve 10' da verilmiştir. Ayrıca çalışmamız sonucunda ulaşılan 2C DNA sonuçları ile türlerin habitat ve tohum boyları kullanılarak yapılan korelasyon testi sonuçları da Tablo 6' da yer almaktadır.

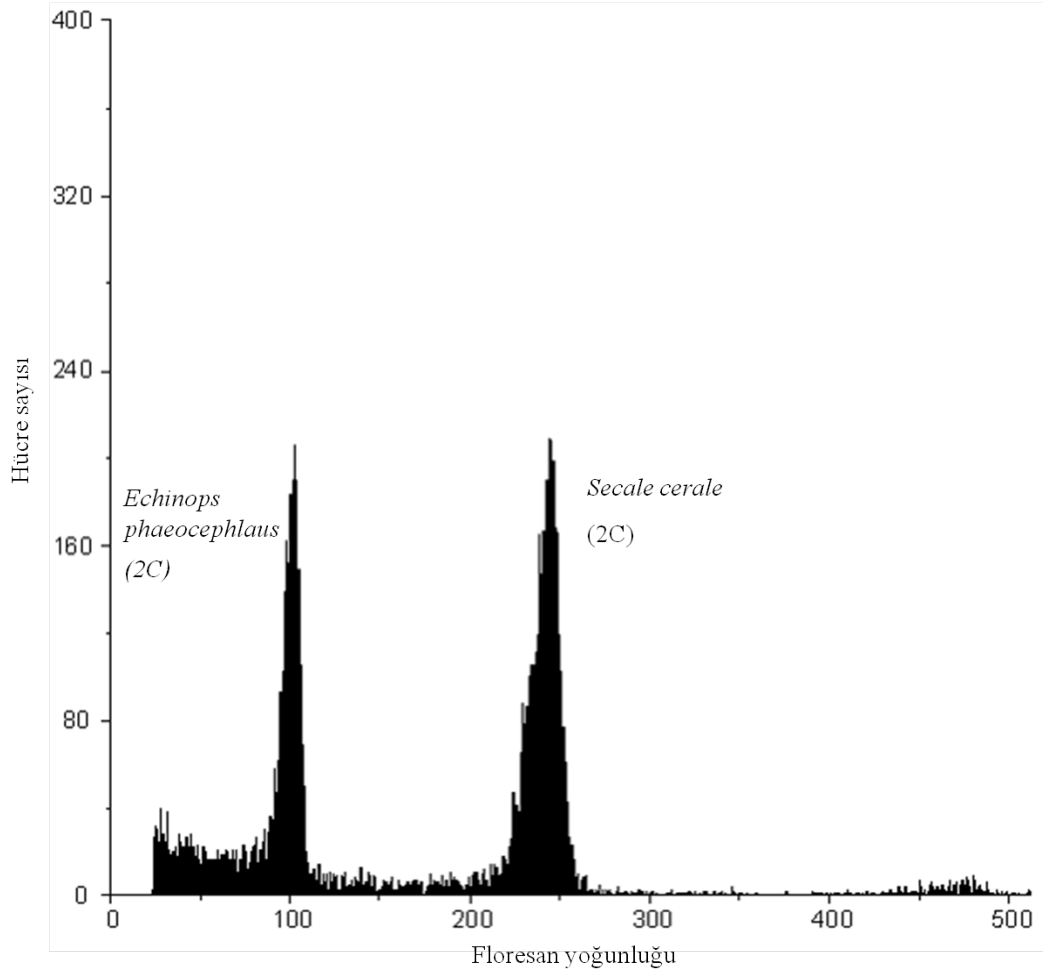
3.1. *Oligolepis* Seksiyonu

3.1.1. *Echinops phaeocephalus*

E. phaeocephalus cinsine ait tek popülasyona ait farklı tohumlar çimlendirilerek elde edilen yapraklardan 5 farklı analiz yapılmıştır. Analizler sonucunda *E. phaeocephalus* türünün 2C DNA miktarları 6,719-6,870 pg aralığında bulunmuştur. Yapılan bütün analizlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile bu türün 2C DNA miktarı $6,80 \pm 0.054$ olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. *Echinops phaeocephalus* türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları

Örnek No	Ortalama Peak (pg)		Toplam hücre sayısı		2C DNA miktarı (pg)	CV	
	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)		Örnek	Standart
CV4582	100,56	239,16	1904	3449	6,807	4,65	3,16
CV4582	100,21	241,47	2405	3836	6,719	5	3,39
CV4582	100,56	239,91	1969	2538	6,786	4,4	3,00
CV4582	100,76	237,46	4360	1680	6,870	2,85	2,09
CV4582	101,16	240,45	1891	3527	6,811	4,76	3,39
				Ortalama	6,80	Standart sapma	0,054

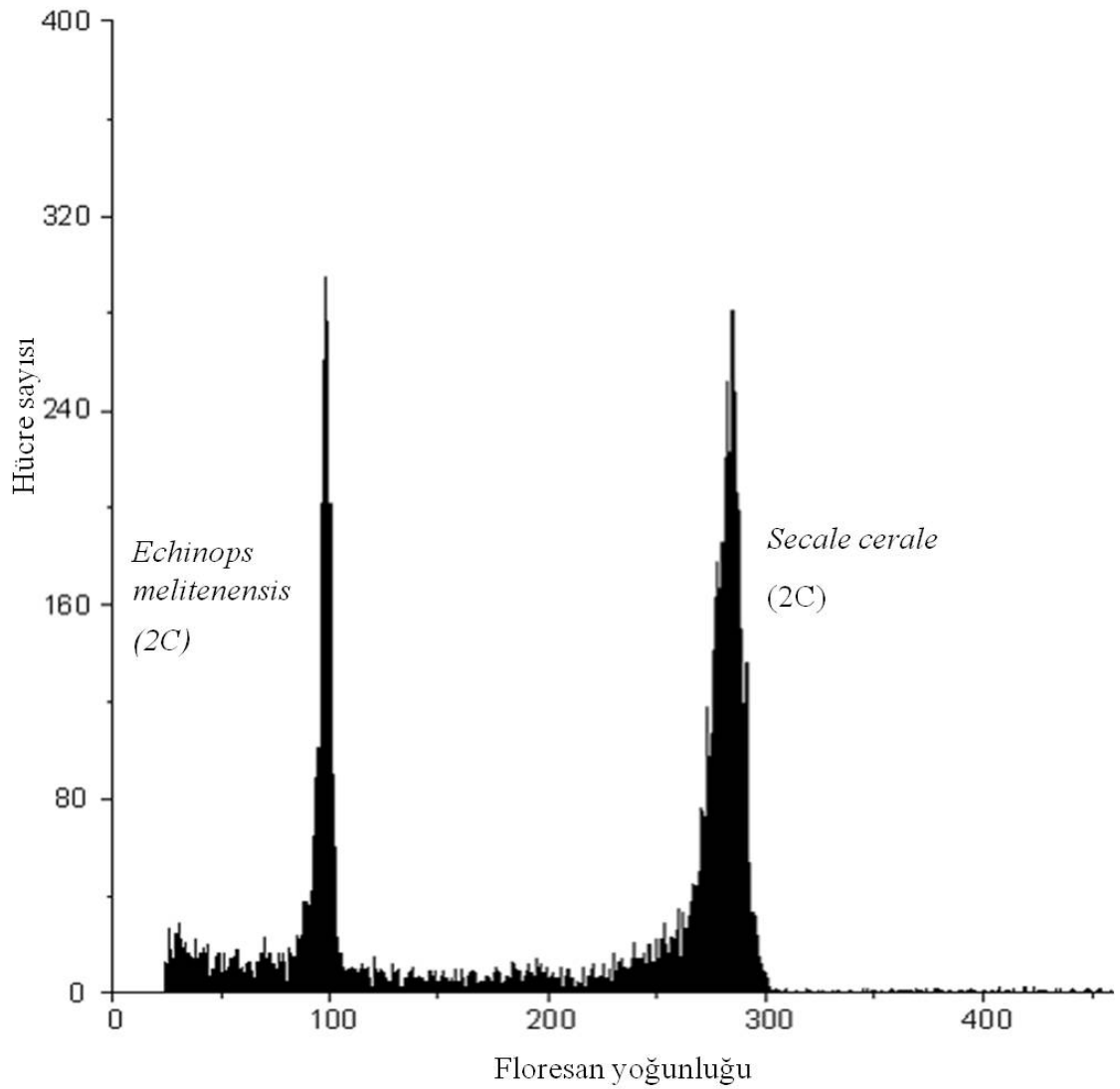
Şekil 3.1. *E. phaeocephalus* türüne ait histogram

3.1.2. *Echinops melitenensis*

E. melitenensis cinsine ait tek popülasyona ait farklı tohumlar çimlendirilerek elde edilen yapraklardan beş farklı analiz yapılmıştır. Analizler sonucunda *E. melitenensis* türünün 2C DNA miktarları 5,526-5,59 pg aralığında bulunmuştur. Yapılan bütün analizlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile bu türün 2C DNA miktarı 5,549 $\pm$ 0.019 pg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.2. *Echinops melitenensis* türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.

Örnek No	Ortalama Peak (pg)		Toplam hücre sayısı		2C DNA miktarı (pg)	CV	
	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)		Örnek	Standart
CV4473	96,93	281,78	2140	4324	5,59	4,39	2,74
CV4372A	99,02	289,14	4177	2198	5,544	5,25	3.39
CV4369B	100,81	295,37	1605	3365	5,526	4,68	3,43
CV4372I	100,49	293,79	2345	2382	5,538	4,62	3,17
CV4369C	99,79	290,29	1907	3424	5,565	4,12	2,3
				Ortalama	5,549	Standart sapma	0,019



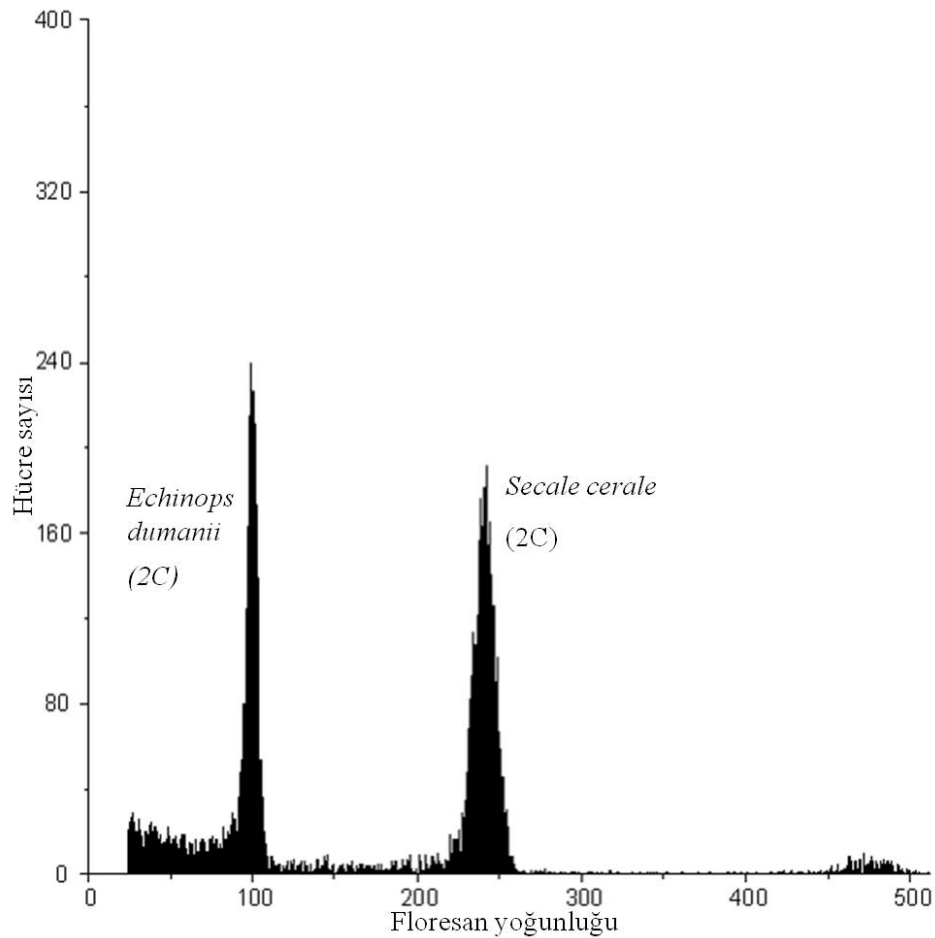
Şekil 3.2. *E. melitenensis* türüne ait histogram.

3.1.3. *Echinops dumanii*

E. dumanii cinsine ait tek popülasyona ait farklı tohumlar çimlendirilerek elde edilen yapraklardan beş farklı analiz yapılmıştır. Analizler sonucunda *E. dumanii* türünün 2C DNA miktarları 6,474 -6,656 pg aralığında bulunmuştur. Yapılan bütün analizlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile bu türün 2C DNA miktarı 6.595 ± 0.074 pg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.3. *Echinops dumanii* türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.

Örnek Numarası	Ortalama Peak (pg)		Toplam hücre sayısı		2C DNA miktarı (pg)	CV	
	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)		Örnek	Standart
CV4744	99,16	242,34	1161	5589	6,625	5,26	3,90
CV4744	98,93	244,65	3864	4754	6,547	6,43	4,54
CV4744	100,53	246,76	2264	3812	6,596	5,38	3,85
CV4744	99,88	242,94	1990	3122	6,656	6,14	4,79
CV4744	99,16	247,97	1099	3579	6,474	4,69	3,17
				Ortalama	6,595	Standart sapma	0,074

Şekil 3.3. *E. dumanii* türüne ait histogram

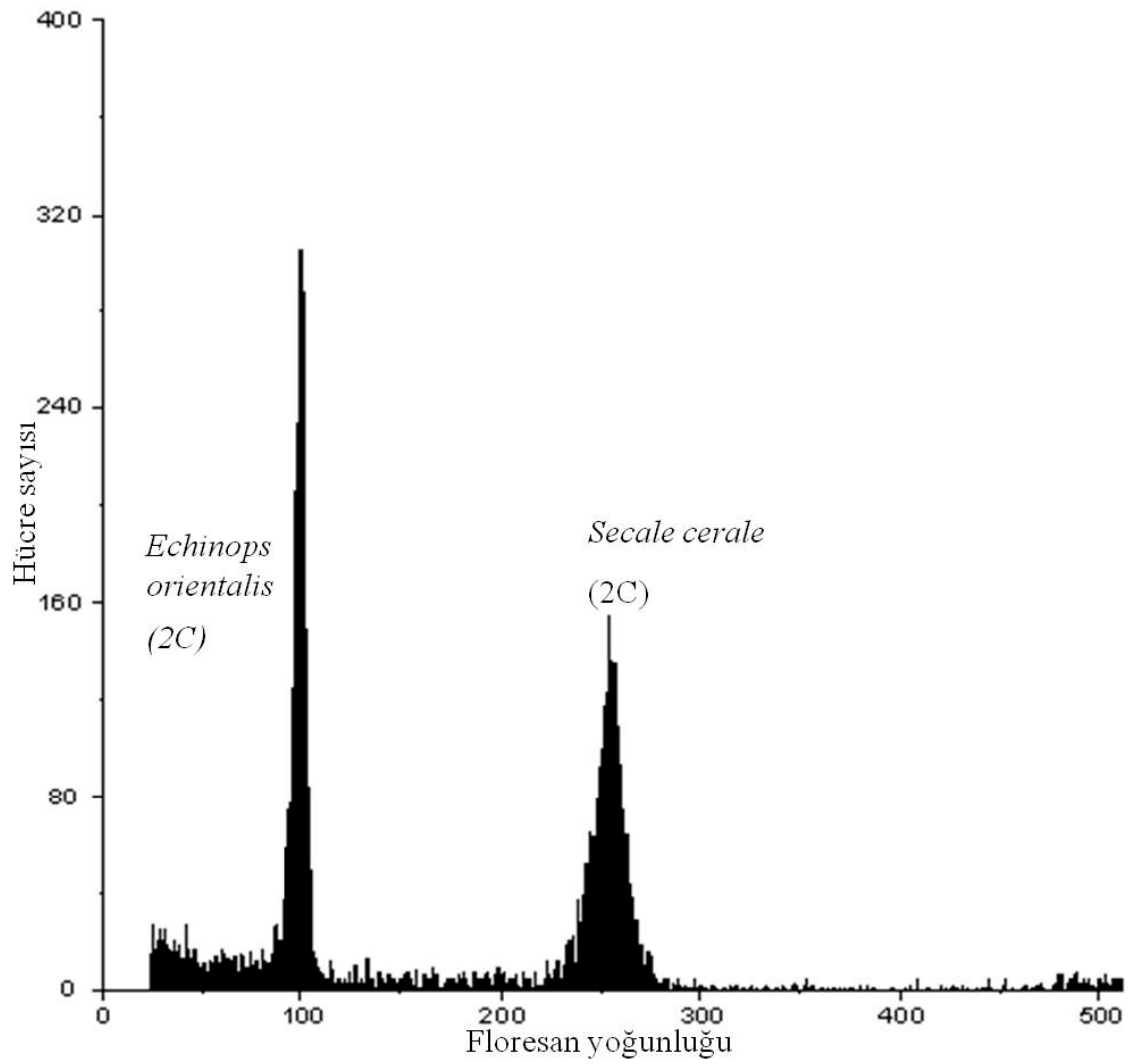
3.2. Ritropsis Seksiyonu

3.2.1. *Echinops orientalis*

E. orientalis cinsine ait tek popülasyona ait farklı tohumlar çimlendirilerek elde edilen yapraklardan beş farklı analiz yapılmıştır. Analizler sonucunda *E. orientalis* türünün 2C DNA miktarları 6,292-6,382 pg aralığında bulunmuştur. Yapılan bütün analizlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile bu türün 2C DNA miktarı 6.328 ± 0.034 pg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.4. *Echinops orientalis* türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.

Örnek Numarası	Ortalama Peak (pg)		Toplam hücre sayısı		2C DNA miktarı (pg)	CV	
	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)		Örnek	Standart
CV4413J	100,00	253,69	2119	3153	6,382	3,38	2,91
CV4413E	98,74	254,07	2584	2592	6,292	4,38	3,41
C4413A	98,85	253,52	1750	3552	6,313	5,56	3,80
CV4413A	101,13	259,29	1505	3499	6,315	4,54	3,77
CV4413B	103,79	265,10	1280	3718	6,339	4,01	3,34
				Ortalama	6,328	Standart sapma	0,034



Şekil 3.4. *E. orientalis* türüne ait histogram.

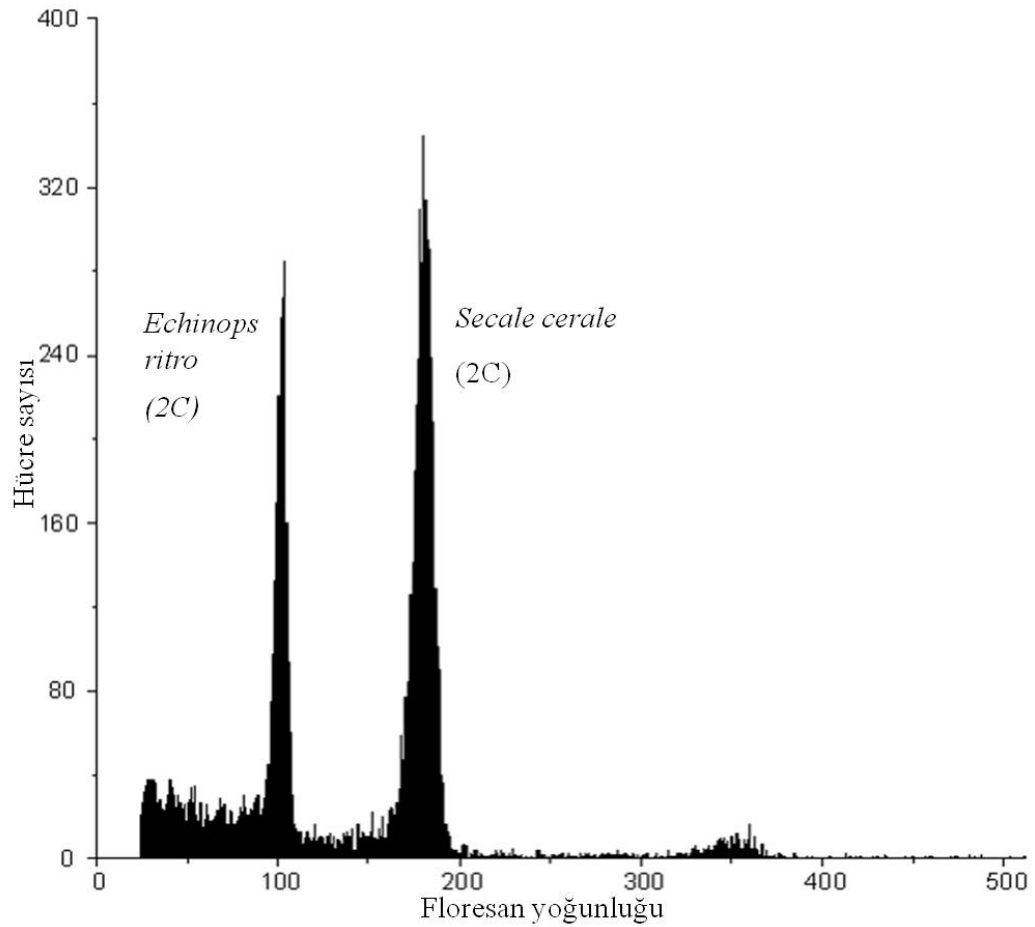
3.3. *Echinops* Seksiyonu

3.3.1. *Echinops ritro*

E. ritro cinsine ait tek populasyona ait farklı tohumlar çimlendirilerek elde edilen yapraklardan beş farklı analiz yapılmıştır. Analizler sonucunda *E. ritro* türünün 2C DNA miktarları 9,081-9,254 pg aralığında bulunmuştur. Yapılan bütün analizlerin aritmetik ortalamalarının alınması ile bu türün 2C DNA miktarı $9,166 \pm 0.075$ pg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.5. *Echinops ritro* türüne ait 2C DNA miktarı analiz sonuçları.

Örnek Numarası	Ortalama Peak (pg)		Toplam hücre sayısı		2C DNA miktarı (pg)	CV	
	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)	Örnek RN1 (G1)	Standart RN2 (G2)		Örnek	Standart
CV-4476	99,71	174,81	3384	1743	9,235	3,38	2,91
CV-4476	100,52	175,86	1811	3255	9,254	4,38	3,41
C-4476	101,20	180,42	1558	3328	9,081	5,56	3,80
CV-4476	101,47	179,86	2404	4498	9,134	4,54	3,77
CV-4476	99,25	176,11	1633	3002	9,124	4,01	3,34
				Ortalama	9,166	Stndrt sapma	0,075

Şekil 3.5. *E. ritro* türüne ait histogram.

Tablo 3.6. Spearman's rho korelasyon testi sonuçları.

		Tohum boyu	Habitat Yüksekliği
<i>Ecninops ritro</i> 2C DNA Miktarı	Correlation Coefficient	0,300	-0,600
	Sig. (2-tailed)	0,624	0,285
	N	5	5
<i>Echinops orientalis</i> 2C DNA Miktarı	Correlation Coefficient	-0,900	0,600
	Sig. (2-tailed)	0,037	0,285
	N	5	5
<i>E. melitenensis</i> 2C DNA Miktarı	Correlation Coefficient	0,154	-0,300
	Sig. (2-tailed)	0,805	0,624
	N	5	5
<i>E. phaeocephalus</i> 2C DNA Miktarı	Correlation Coefficient	0,616	-0,100
	Sig. (2-tailed)	0,269	0,873
	N	5	5
<i>E. dumanii</i> 2C DNA Miktarı	Correlation Coefficient	0,667	-0,100
	Sig. (2-tailed)	0,219	0,873
	N	5	5

E. ritro türü için yapmış olduğumuz korelasyon testi ele alındığında, 2C DNA miktarı ile tohum değişkenleri arasında pozitif yönlü, düşük düzeyde bir ilişki vardır ($\rho = 0,300$, $p = 0,624$). *E. ritro* türünün yaşadığı yükseklik ve 2C DNA miktarı arasında ise negatif yönlü, orta düzeyde bir ilişki vardır. ($\rho = -0,600$, $p = 0,285$). Fakat 2C DNA miktarı ile her iki karakter arasında da istatistiksel anlamda bir ilişki söz konusu değildir.

E. orientalis türü için yapmış olduğumuz korelasyon testinde, 2C DNA miktarı ile tohum değişkenleri arasında negatif yönlü, güçlü seviyede bir ilişki vardır. ($\rho = -0,900$, $p = 0,037$). *E. orientalis* türünün DNA miktarı ve yaşam yeri karşılaştırıldığında ise

pozitif yönlü, orta düzeyde bir ilişki vardır. Ancak istatistiksel anlamda bir ilişki yoktur ($\rho = -0,600$, $p = 0,285$).

E. melitenensis türünün 2C DNA miktarı ile tohumları karşılaştırıldığında, pozitif yönlü, düşük düzeyde bir ilişki gözlenmiştir ($\rho = -0,154$, $p = 0,805$). Bu türün DNA miktarı ve habitat yüksekliği karşılaştırıldığında ise yine düşük düzeyde, negatif yönlü bir ilişki görülmüştür ($\rho = -0,300$, $p = 0,624$). Ancak 2C DNA miktarı ile hem tohum hem de habitat yükseklikleri arasında istatistiksel anlamda bir ilişki bulunmamaktadır.

E. phaeocephalus türünün 2C DNA miktarı ile tohumları karşılaştırıldığında, pozitif yönlü, güçlü bir ilişki vardır ($\rho = -0,656$, $p = 0,269$). Bu türün DNA miktarı ve habitat yüksekliği karşılaştırıldığında ise negatif yönlü, düşük düzeyde bir ilişki görülmektedir ($\rho = -0,100$, $p = 0,873$). Ancak 2C DNA miktarı ile hem tohum hem de habitat yükseklikleri arasında istatistiksel anlamda bir ilişki bulunmamaktadır.

E. dumanii türünün 2C DNA miktarı ile tohumları karşılaştırıldığında, pozitif yönlü, güçlü bir ilişki vardır ($\rho = -0,667$, $p = 0,219$). Bu türün DNA miktarı ve habitat yüksekliği karşılaştırıldığında ise negatif yönlü, düşük düzeyde bir ilişki görülmektedir ($\rho = -0,100$, $p = 0,873$). Ancak 2C DNA miktarı ile hem tohum hem de habitat yükseklikleri arasında istatistiksel anlamda bir ilişki bulunmamaktadır.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1 TARTIŞMA

Türkiye’ de yayılış gösteren *Echinops* cinsine ait türlerden *E. sphaerocephalus*, *E. spinosissimus*, *E. orientalis*, *E. tournefortii* türlerinin farklı popülasyonlarının 2C değerleri Garnatje et al. (2004) [45] tarafından daha önce belirlenmesine rağmen bu çalışmada yer alan *E. phaeocephalus*, *E. melitenensis*, *E. dumanii* ve *E. ritro* türleri ilk kez tarafımızdan çalışmıştır.

Viřintin *et al.* (2006), *Trifolium* (Fabaceae) cinsine ait 31 türün 2C-değerlerini belirlenmiştir. Çalıştığı türlerin 2C değerleri 0,688 pg ile 7,375 pg arasında değişmektedir. En küçük ve en büyük 2C değeri arasında 10,7 katlık oldukça büyük bir farklılık vardır. Viřintin *et al.* bu büyük farklılığı poliploidi seviyeleri ile ilişkilendirilebileceğini belirtmiştir. Ayrıca türlerin geniş coğrafik dağılımlarında bu derecede farklı değerler elde edilmesinde rolü olabileceğini belirtmişlerdir [65]. Aynı durum, Naganowska *et al.* (2003) tarafından çalışan *Lupinus* türlerinde de gözlenmiştir. Çalıştıkları 18 *Lupinus* türü arasında, en büyük 2C değerlerine (2,44 pg) sahip olan türün, en küçük 2C değerine (0,97 pg) sahip olan türden 2,5 kat daha fazla olduğunu bulmuşlardır [66]. Yapılan bir başka çalışmada, 24 *Lathyrus* türlerinin 2C değerlerini hesaplamıştır ve en büyük 2C DNA miktarının en küçük 2C DNA miktarından yaklaşık 2,4 kat daha fazla olduğunu görmüşlerdir [67]. Bu çalışmaların tümünde 2C DNA değerlerinde gözlenen büyük fark ikincil sebeplerin yanında temelde taksonların poliploid olmasından kaynaklandığı vurgulanmaktadır. Bu çalışmada ise 2C DNA miktarları arasında farklılık verilen örnek çalışmalarda olduğu kadar yüksek seviyelerde değildir. Bu nedenle analizi yapılan *Echinops* türlerinin poliploid değil, diploid olduğunu görülmektedir.

Garnatje *et al.* (2004) tarafından yapılan bir çalışmada Asteraceae familyasının üyeleri olan ve *Echinops* cinsi ile birlikte gruplanmış cinslerden *Amphoricarpus*, *Xeranthemum*, *Siebera* ve *Chardinia* cinslerine ait bazı türlerin 2C DNA miktarlarını belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda 1,73 pg değeriyle en küçük 2C değerine sahip olan *Amphoricarpus*, yapılan bazı moleküler çalışmalara ve yaşam formlarına (çok yıllık bir genus) göre grubun atasal cinsi olarak kabul edilmiştir. *Xeranthemum* ise grup içerisindeki en gelişmiş cins olarak kabul edilmiştir. 4,06 pg 2C değerine sahip olan *Xeranthemum* cinsinin *Chardinia* cinsinden köken aldığını düşünmektedirler. *Xeranthemum* ve *Amphoricarpus* cinsleri arasında yer alan bu cins de 3,75 pg 2C DNA miktarına sahiptir. Grubun diğer üyesi olan *Siebera* cinsi ise, 16,98 pg 2C DNA miktarına sahiptir ve *Xeranthemum*' a dahil olduğunu düşünmektedirler [45]. Çalışılan cinslerin oluşum zamanları ve 2CDNA miktarları incelendiğinde atasal olarak düşünülen cinsten en modern cinsle doğru gidildikçe 2C DNA miktarlarının arttığı gözlemlenmiştir. Bazı araştırmacılar bu durumu destekleyerek, atasal angiospermilerin genomlarının daha küçük olduğunu ve gelişmiş dikotlar ve monokotlarda 2C DNA değerlerinin çok daha büyük olduğunu belirtmişlerdir [68, 69]. Yine Garnatje *et al.* (2004) [45] ün yaptıkları çalışma kapsamında, 2C DNA miktarı belirlenen *Echinops* cinsinin durumu ise bu kadar büyük bir cins için yetersiz sayıda örnek ile çalışılması nedeniyle tam olarak bir açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu analizleri sonucunda elde ettikleri 2C DNA miktarları ile cinsin bilinen kromozom sayıları arasında değerlendirmelerde bulunmuştur. *Echinops* cinsinden çalışılan türlerin bir kısmı *Echinops* seksiyonuna ait olup bu grupta yer alan türlerin hepsinin kromozom sayıları $2n=30$ dur ve ortalama 2C DNA miktarları $7,50\pm0,38$ pg' dır. Diğer bir seksiyon olan *Ritropsis* seksiyonunun kromozom sayısı ise $2n=28,30,32$ olarak çeşitlilik göstermektedir ve daha değişken olan DNA miktarlarının ortalaması $6,70\pm1,92$ pg' dır. *Chanaechinops* seksiyonunun kromozom sayısı $2n=30, 32$ iken ortalama 2C DNA miktarı ($7,72\pm2,26$ pg) diğer seksiyonlardan daha yüksek ve daha değişkendir. Bu büyük orandaki 2C DNA miktarındaki farklılığı vejetasyon periyodunun kısa olduğu ekolojik şartlarda, türlerin hızlı yaşam döngülerinden dolayı seleksiyon süreçlerinin baskılanması sonucunda hızlı hücre döngüsüne sahip türlerin daha küçük 2C DNA miktarına sahip olabilmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Kalendear *et al.* (2000)' nin de belirttiği gibi genom miktarındaki farklılıklar çevreye bir adaptasyon

mekanizması olarak retranspozan aktiviteler sonucunda da meydana gelmiş olabileceğini belirtmişlerdir [70].

Bu çalışmada analizleri yapılan türlerin 2C DNA değerleri 5,549 pg ile 9,166 pg aralığında değişmektedir. Bu türlerden *E. melitenensis* en küçük 2C DNA değerine sahiptir. Yapmış olduğumuz moleküler verilere ve morfolojik karakterlere dayalı çalışmalar sonucunda bu türün ait olduğu seksiyonda yaklaşık 1,5-2 milyon yıl önce diğer türlerden ayrılarak oluştuğu hesaplanmıştır [yayınlanmamış veri]. Bu özelliği ile seksiyonun atasal türü kabul edilen *E. melitenensis* yukarda bahsedilen diğer atasal türler gibi bulunduğu grupta en küçük 2C DNA miktarına sahiptir. Seksiyona ait olan diğer iki türün ise 2C DNA miktarları birbirine çok yakın değerler verirken morfolojik ve moleküler verilere göre türleşme sürecinin son basamağında *E. dumanii*' den 1-1,6 milyon yıl önce ayrılmış olan ve seksiyon içerisindeki en büyük 2C DNA miktarına sahip olan *E. phaeocephalus* yer almaktadır [yayınlanmamış veri]. Bu neticede değerlendirdiğimizde, 2C DNA miktarlarının cins içerisinde yer alan atasal türden en modern türe doğru arttığını görmekteyiz.

Genom miktarlarında etkin olduğu düşünülen bir diğer etken de iklim koşullarıdır. Ohri *et al.* (1998), *Allium* türlerinin sıcak iklimli yerlerde yetişen türlerinin daha yüksek 2C DNA miktarına sahip olduğunu, nemli yerlerde yaşayan türlerin ise daha düşük genom miktarına sahip olduğunu belirlediler [71]. Torrell ve Vallès (2001) ise *Artemisia* türlerinin kötü iklim koşullarına bir adaptasyon olarak DNA miktarında artış olduğunu rapor ettiler [72]. Knight ve Ackerly (2002), küçük DNA miktarına sahip olan türlerin, büyük DNA miktarına sahip olanlara göre çevre koşullarına karşı daha dirençli olduğunu vurgulamışlardır [73]. Bu verilere dayanarak, çalışmamızdaki türler ele alındığında, tarım arazisinde yayılış göstermekte olan *E. melitenensis* türünün en az 2C DNA miktarına sahip olduğu görülmektedir. *E. dumanii*' nin ise çalışılan türler arasında en kötü çevre koşullarına sahip olduğunu söyleyebiliriz. Ancak en fazla DNA miktarına sahip tür değildir. *E. phaeocephalus* nehir kenarında ve yamaçlarda yayılış göstermekte olup *E. dumanii*' den daha iyi çevre koşullarına sahip olmasına rağmen, daha fazla DNA miktarına sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca Knight ve Ackerly (2002)' nin belirttiği gibi küçük 2C DNA miktarına sahip olan türlerin her türlü çevre koşulunda yaşayabildiği hipotezi bu çalışmada gözlemlenemedi [73]. Aksine en geniş yayılışa

sahip türlerden biri olan *E. ritro* (9,166 pg) en yüksek 2C değerine sahip tür olduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada, *Echinops* seksiyonuna ait *E. ritro* cinsi 9,166 pg 2C DNA miktarı ile diğer iki seksiyondan farklı bir değere sahiptir. Ancak *Ritropsis* seksiyonuna ait, 2C DNA miktarı 6,392 pg olan *E. orientalis* türü ise *Oligolepis* seksiyonundaki türlerle oldukça yakın bir değer vermektedir. Garnatje *et al.* (2004)' nin de belirttiği gibi *Echinops* türlerinin 2C DNA miktarı ile bu türlerin habitatları, kromozom sayıları ve yükselteleri ile ilgili her hangi bir arasında herhangi bir korelasyon görülememiştir [45]. Bizde çalışmamızda elde ettiğimiz 2C DNA miktarlarının, türlerin habitatları ve tohum boyları arasında herhangi bir ilişki olup olmadığına spersman' rho korelasyon testi yapılarak test edilmiştir. Yapılan korelasyon testi sonucunda 2C DNA miktarları ile hem tohum boyları hem de habitatları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülememiştir.

4.2. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türlerin sahip olduğu en büyük ve en küçük 2C DNA miktarları arasında büyük bir farklılık görüldüğü takdirde bu türlerin poliploid olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu çalışmada analiz edilen taksonlarda ise 2C DNA değerleri arasında çok büyük farklılıklar olmadığından dolayı türlerin diploid olduğunu düşünülmektedir.

Türleşme sürecinde ilk basamakta yer alan atasal türden, en son oluştuğu düşünülen en Çalışılan modern türe gidildikçe 2C DNA miktarlarında bir artış olduğu görülmektedir. olduğumuz seksiyon içerisinde de 2C DNA miktarları, atasal tür olarak kabul edilen *E. melitenensis*' den grubun en modern türü olan *E. phaeocephalus*' a doğru bir artış görülmektedir.

Aynı cins içerisinde gözlenen 2C DNA miktarlarındaki farklılık türlerin bulundukları ekolojik şartlara göre bir adaptasyon mekanizması olarak farklılaşabileceği düşünülmektedir. Ancak ekolojik faktörlerin DNA miktarı üzerinde her zaman aynı yönde etki etmediği görülmektedir. *Echinops* cinsi taksonları arasında ise çevre koşulları göz önüne alınarak yapılan sperman's rho korelasyon testi sonuçlarına göre pozitif ya da negatif yönlü, anlamlı bir ilişki görülmemiştir.

Garnatje et al. (2004)' unda [45] vurguladığı gibi, *Echinops* gibi büyük cinslerdeki bu belirsizliklerin ortadan kaldırılabilmesi için daha fazla takson içeren çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Doležel, J., 1997. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics** **38**: 285-302.
2. Doležel J., 1997. Flow cytometry - principles and applications in mutation breeding & practical exercises. In *15th IAEA/FAO Interregional training course for induced mutations in crops (C7-INT-5.143)*, 1997, pp 30.
3. Rieseberg, M., Kasper C., Reaeson K. F., Scheper T., 2001. Flow cytometry in biotechnology, **Applied Microbial Biotechnology**, **56**: 350-360.
4. Doležel, J., 1991. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. **Phytochemical analysis**, **2**: 143-154.
5. Heller, F.O., 1973. DNS-Bestimmung an Keimwurzeln von *Vicia faba* L. mit Hilfe der Impulscytophotometric. **Berichte Der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, **86**: 437-441.
6. Galbraith, D. W., 1989. Flow cytometric analysis of plant genomes, pp. 2-18. – In *EMBO practical course: Flow cytometry, a tool in cellular and molecular biology, Cologne*.
7. Puite, K. J., Ten Broeke W. R. R., 1983. DNA staining of fixed and non-fixed plant protoplasts for flow cytometry with Hoechst 33342. **Plant Science Letters**, **32**: 243-249.
8. Galbraith D. W., Harkins K. R., Maddox J. M., Ayres N. M., Sharma, D. P., Firoozabady E., 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science**, **220**: 1049-1051.
9. Leitch, I. J., Bennett, M. D., 2002. New insights into patterns of nuclear genome size evolution in plants. **Current Genomics**, **3**: 551-562.
10. Chung, J., Lee, J. -H, Arumuganathan, K., Graef, G. L., Specht, J. E., 1998. Relationships between nuclear DNA content and seed and leaf size in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, **96**: 1064-1068.
11. Biradar, D. P., Rayburn, A. L., Bullock D. G., 1993. Endopolyploidy in diploid and tetraploid maize (*Zea mays* L.). **Annals of Botany (London)**, **71**: 417-421.
12. Price, H. J., Johnston, J. S., 1996. Influence of light on DNA content of *Helianthus annuus* L.. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **93**: 11264-11267.

13. Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J., 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, **2**: 2233-2244.
14. Śliwńska, E., Zielińska, E., Jędrzejczyk, I., 2005. Are seeds suitable for flow cytometric estimation of plant genome size? **Cytometry**, **64A**: 72-79.
15. Lourerio, J., Rodriguez, E., Costa, A., Santos, C., 2007. Genome size estimations on *Ulmus minor* Mill., *Ulmus glabra* Huds. and *Celtis australis* L. using flow cytometry. **Plant Biology**, **9**: 541-544.
16. Lourerio, J., Rodriguez, E., Costa, A., Santos, C., 2007. Nuclear DNA content estimations in wild olive (*Olea europaea* Tvar. *Sylvestris*) and Portuguese cultivars of *O. europaea* using flow cytometry. **Genetic Resources and Crop**, **54**: 21-25.
17. Greilhuber, J., 2008. Cytochemistry and C-values: the less-well-known world of nuclear DNA amounts. **Annals of Botany**, **101**: 791-804.
18. Mozorowska, M., Czarna, A., Jędrzejczyk I., 2010. Estimation of nuclear DNA content in *Nasturtium* R. Br. By flow cytometry. **Aquatic Botany**, **93**: 250-253.
19. Davis P.H., Hedge I.C., The Flora of Turkey; Past, Present and Future, *Candollea*, 30:331- 351, (1975). Davis, P.H., 1975.
20. Turkey: Present State of Floristic Knowledge, La Flore du bassin Med.: **Ecsai de Systemetique Synthetique**, **235**: 93-113.
21. Swift, H., 1950. The constancy of deoxyribose nuclei acid in plant nuclei. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **36**: 643-654. Doležel, J., Bartoš J., Greilhuber, J., 2003.
22. Nuclear DNA content and genom size of trout and human (Letter to the editor). **Cytometry**, **51A**: 127-128.
23. Bennett, M. D., Leitch I. J., 2003. Plant DNA C-values database (release 2.0, Jan. 2003). Erişim adresi: <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>.
24. Suda, J., 2004. An Employment of Flow Cytometry into Plant Biosystematics. Charles University, PhD Thesis, Czech Republic, pp. 49. Erişim adresi: <http://www.ibot.cas.cz/fcm/suda/presentation/disertation.pdf>.
25. Bennett, M. D., Smith J. B., 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Philosophical Transaction of the Royal Society London B: Biological Sciences**, **274**: 227-274.

26. Bennett, M. D., Smith J. B., 1991. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Philosophical Transaction of the Royal Society London B: Biological Sciences**, **334**: 309-345.
27. Bennett, M. D., Smith, J. B., Heslop-Harrison, J. S., 1982. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Proceedings of the Royal Society of London**, **216**: 179-199.
28. Bennett, M. D., Bhandol, P., Leitch, I. J., 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. **Annals of Botany (London)**, **86**: 859-909.
29. Bennett, M. D., Johnston, S., Hodnett, G. L., Price, H. J., 2000. *Allium cepa* L. cultivars from four contents compared by flow cytometry show nuclear DNA constancy. **Annals of Botany (London)**, **85**: 351-357.
30. Bennett, M. D., Leitch, I. J., 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany (London)**, **76**: 113-176.
31. Bennett, M. D., Leitch, I. J., 1997. Nuclear DNA amounts in angiosperms, 583 new estimates. **Annals of Botany (London)**, **80**: 169-196.
32. Plant DNA C-values Database (Release 5.0, Dec. 2010). Erişim adresi: **<http://www.rbgekew.org>**. (Kasım 2011).
33. Mirsky, A., Ris, R. H., 1951. The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance. **Journal of General Physiology**, **34**: 451-462.
34. Price, H. J., Sparrow, A. G., Nauman, A. F., 1973. Correlations between nuclear volume, cell volume, and DNA content in meristematic cells of herbaceous angiosperms. **Experientia**, **29**: 1028-1029.
35. Van' t Hof, J., Sparrow, A., 1963. A relationships between DNA content, nuclear volume and minimum mitotic cycle time. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **49**: 897-902.
36. Van' t Hof, J., 1965. A relationships between mitotic cycle duration, S period duration and the average rate of DNA synthesis in the root meristem cells of several plants. **Experimental Cell research**, **39**: 48-58.
37. Bennett, M. D., 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. **Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences**, **181**: 109-135.

38. Jedrzejczyk, I., Sliwinska, E., 2010. Leaves and seeds as materials for flow cytometric estimation of the genome size of 11 Rosaceae woody species containing DNA-staining inhibitors. **Journal of Botany**, **9** pages.
39. Mazzella, C., Rodriguez, M., Vaio, M., Gaiero, P., López-Carro, B., Santiñaque, Folle, G. A., Guerra, M., 2010. Karyological features of *Achyrocline* (Asteraceae, Gnaphalieae): stable karyotypes, low DNA content variation and linkage of rRNA genes. **Cytogenetic and Genome Research**, **128**: 169-176.
40. Chrtek, J. J., Zahradníček, J., Krak, K., Fehrer, J., 2009. Genome size in *Hieracium* subgenus *Hieracium* (Asteraceae) is strongly correlated with major phylogenetic groups. **Annals of Botany**, **104** (1): 161-78.
41. Dydak, M., Kolano, B., Nowak, T., Śliwinska, D., Maluszynska, J., 2009. Cytogenetic studies of three European species of *Centaurea* L. (Asteraceae). **Hereditas**, **146**: 152-161.
42. Kheria, H., Walker, D. J., Correal, E., Bouzid, S., 2008. Estimation of nuclear DNA content in populations of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) by flow cytometry, **Caryologia**, **61**(2): 160-163.
43. Suda, J., Krahulcová, A., Trávníček P., Rosenbaumová, R., Peckert, T., Krahulec, F., 2007. Genome size variation and species relationships in *Hieracium* sub-genus *Pilosella* (Asteraceae) as inferred by flow cytometry. **Annals of Botany**, **100**: 1323-1335.
44. Albach, D. C., Greilhuber, J., 2004. Genome size variation and evolution in *Veronica*. **Annals of Botany**, **94**: 897-911.
45. Garnatje, T., Valles, J., Garcia, S., Hidalgo, O., Sanz, M., Canela, M.A., Siljak-Yakovlev, S., 2004. Genome size in *Echinops* L. and related genera (Asteraceae, Cardueae): karyological, ecological and phylogenetic implications. **Biology of Cell**, **96**: 117-124.
46. Dimitrova, D., Greilhuber, J., 2000. Karyotype and DNA-content evolution in ten species of *Crepis* (Asteraceae) distributed in Bulgaria. **Botanical Journal of the Linnean Society**, **132**: 281-297.
47. Price, H. J., Hodnett, G., Johnston, J. S., 2000. Sunflower (*Helianthus annuus*) Leaves Contain Compounds that Reduce Nuclear Propidium Iodide Fluorescence. **Annals of Botany**, **86**: 929-934.
48. Heywood, V. H., 1978. Flowering Plants of the World, Oxford Univ. Press, London.

49. Everard, B., Morley, B. D., 1970. Wild Flowers of the World. Ebury P. Joseph.
50. Akhtar, T., 2005. Taxonomic Study of the Tribe Cardueae from Pakistan with Emphasis on Conservation Status and Ethnobotanical Aspect. Quaid-I-Azam University, Ph.D. Thesis, Islamabad.
51. Bentham, G., 1873. Compositae, pp 162–533. In: Genera Plantarum (Eds. G. Bentham, J. D. Hooker. Lovell Reeve & Co., London.
52. Hoffmann, O., 1894. Compositae, pp 324–333. In: Die natu" rlichen Pflanzenfamilien (Eds. A. Engler, K. Prantl). Wilhelm Engelmann, Leipzig.
53. Dittrich, M., 1977. Cynareae – Systematic review, pp (2) 999-1015. In: The Biology and Chemistry of the Compositae (Eds. Heywood, V.H., Harborne, J.B., Turner, B.L.). Academic Press, London.
54. Bremer, K., 1994. Asteraceae: *Cladistics and Classification*. Timber Press, Portland, Oregon.
55. Jäger, E.J., 1987. Arealkarten der Asteraceen-Tribus als Grundlage der ökogeographischen Sippencharacteristik. **Botanische Jahrbücher für Systematic**, **108**: 481-497.
56. Petit, D. P., 1988. Le genre *Echinops* L. (Compositae: Cardueae). 1. Position phylétique et interprétation de l'incapitulescence. **Candollea**, **43**: 467-481.
57. Hedge, I. C., 1975. *Echinops* L. vol: 5, pp 609-622. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, (ed. P. H., Davis). Edinburgh University Press, Edinburgh.
58. Mozaffarian, V., 2006. A taxonomic survey of *Echinops* L. tribe Echinopeae (Asteraceae) in Iran: 14 new species and diagnostic keys. **Iranian Journal of Botany**, **11**: 197-239.
59. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Barışcan Ofset, Ankara.
60. Gemici, Y., Leblebici, E., 1992. A new species of *Echinops* (Asteraceae) from Anatolia (Turkey). **Candollea**, **47** (2): 597-599.
61. Vural, C., Biter M. K., Dadandı M. Y., 2010. A new species of *Echinops* L. (Asteraceae) from Turkey. **Turkish journal of Botany**, **34**: 513-519.
62. Vural, C., Dadandı, M. Y., 2010. Türkiye *Echinops* L. (Asteraceae) Türlerinin Taksonomik Revizyonu. Tubitak Proje No: 106T526.

63. Doležal, J., Bartos, J., 2005. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, **95**: 99-110.
64. Lysá'k, M., Doležal, J., 1998. Estimation of nuclear DNA content in *Sesleria* (Poaceae). **Caryologia**, **52**: 123-132.
65. Vižintin, L., Branka, J., Borut, B., 2006. Genetic characterization of selected *Trifolium* species as revealed by nuclear DNA content and ITS rDNA region analysis. **Plant Science**, **170**: 859-866.
66. Naganowska, B., Wolko, B., Sliwinska, E., Kaczmarek, Z., 2003. Nuclear DNA content variation and species relationships in the genus *Lupinus* (Fabaceae). **Annals of Botany**, **92**: 349-355.
67. Nandini, A. V., MURRAY F.L.S., B. G., 1997. Intra-andinterspecific variation in genome size in *Lathyrus* (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, **125**: 359-366.
68. Bharathan, G., 1996. Reproductive development and nuclear DNA content in angiosperms. **Genome**, **39**: 379-394.
69. Leitch, I. J., Chase, M. W., Bennett, M. D., 1998. Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. **Annals of Botany**, **82**: 85-94.
70. Kalendar, R., Tanskanen, J., Immonen, S., Nevo, E., Schulman, A.H., 2000. Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by *BARE-1* retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **97**: 6603-6607.
71. Ohri, D., 1998. Genome size variation and plant systematics. **Annals of Botany**, **82**: 75-83.
72. Torrell, M., Vallès, J., 2001. Genome size in 21 *Artemisia* L. species (Asteraceae, Anthemideae): systematic, evolutionary and ecological implications. **Genome**, **44**: 231-238.
73. Knight, C. A., Ackerly, D. D., 2002. Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: A quantile regression analysis. **Ecology Letters**, **5**: 66-76.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Handan ŞAPCI

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 24 Ocak 1987, Kayseri

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 538 288 73 52

email: handan2601@gmail.com

Yazışma Adresi: Mimarşinan mh. Sivas cad. Olgun apt. 119/6 38020

Kocasinan/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Kayseri Lisesi, Kayseri	2004

STAJ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum
2010- 2011	University of Technology and Life Science in POLAND

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. Vural C., Şapcı H., (2011). Five new records of the genus *Echinops* (Asteraceae) from Turkey. *Türk J Bot* (36), doi: doi:10.3906/bot-1009-80.
2. Vural C, Şapçı H (2010). *Echinops vaginatus* Boiss et Hausskn (Asteraceae). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. PB-187, özet kitabı syf. 443-444.
3. Şapçı H, Vural C, Dabanlı D, Özcan S (2010). Türkiye *Echinops* L. (Asteraceae) Taksonlarının Tohum Depo Proteinleri Poliformizminin SDS-PAGE Yöntemi İle Araştırılması. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. PB-199, özet kitabı syf. 455.
4. Şapçı H, Vural C (2010). *Echinops heterophyllus* P. H. Davis (Asteraceae). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. PB-200, özet kitabı syf. 455-456.
5. Dabanlı D, Şapçı H, Vural C, Aşık E (2010). *Echinops phaeocephalus* Hand.-Mazz (Asteraceae). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. PB-188, özet kitabı syf. 444-445.

6. Vural C, Şapçı H (2010). *Echinops sphaerocephalus* subsp. *albidus* P. H. Davis (Asteraceae). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. PB-186, özet kitabı syf. 442-443.
7. Şapçı H, Dabanlı D, Özcan S, Ekici M, Vural C, Akan H (2010). Phylogenetic Relationships Of Taxa Of Dissitiflori DC. Section In Genus *Astragalus* L. Using Seed Storage Protein Polymorphism. XIII. OPTIMA MEETING (Uluslararası). Özet kitabı syf. 117
8. Dabanlı D, Şapçı H, Özcan S, Ekici M, Vural C, Akan H (2010). Phylogenetic Relationships Of Taxa Of Hypoglottidei DC. Section In Genus *Astragalus* L. Using Seed Storage Protein Polymorphism. OPTIMA MEETING (Uluslararası). Özet kitabı syf. 88.
9. Vural C, Özcan S, Ekici M, Şapçı H, Dabanlı D, Aytaç Z (2010). Phylogenetic Relationships Of Taxa of Incani DC. Section In Genus *Astragalus* L. Using Seed Storage Protein Polymorphism. XIII. OPTIMA MEETING (Uluslararası). Özet kitabı syf. 166.