

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(DOKTORA TEZİ)**

**TÜRKİYE VE İRAN ORİJİNLİ BAZI MERYEMANA DİKENİ
(*Silybum marianum* L. Gaertn) POPÜLASYONLARINDA
AGRONOMİK, FİTOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Amir Hasan TAGHILOOFAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emine BAYRAM

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 25.12.2017

Bornova-İZMİR

2018

Amir Hasan TAGHILOOFAR tarafından doktora tezi olarak sunulan “Türkiye ve İran Orijinli Bazı Meryemana Dikeni (*Silybum marianum* L. Gaertn) Popülasyonlarında Agronomik, Fitokimyasal ve Moleküler Farklılıkların Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 25.12.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Emine BAYRAM

Raportör Üye : Prof. Dr. Olcay ARABACI

Üye : Prof. Dr. Aynur GÜREL

Üye : Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

Üye : Prof. Dr. İsa TELCİ

İmza







EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Türkiye ve İran orijinli bazı meryemana diken (silybum marianum L. Gaertn) popülasyonlarında agronomik, fitokimyasal ve moleküler farklılıkların belirlenmesi üzerinde araştırmalar” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

25 /12 / 2017

İmzası

Amir Hasan TAGHILOOFAR



ÖZET

**TÜRKİYE VE İRAN ORİJİNLİ BAZI MERYEMANA DİKENİ
(*Silybum marianum* L. Gaertn) POPÜLASYONLARINDA
AGRONOMİK, FİTOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

TAGHILOOFAR, Amir Hasan

Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emine BAYRAM

Şubat 2018, 159 Sayfa

Bu araştırma Türkiye ve İran orijinli 17 meryemana diken popülasyonu ile tescilli Budakalaszi çeşidinin agro-morfolojik, fitokimyasal ve moleküler (iPBS) markörler kullanarak popülasyonlar arasında olan genetik farklılıklarını belirlemek amacıyla; 2013-2014 ve 2014-2015 deneme yıllarında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Deneme Alanında, tesadüf blokları deneme desenine göre dört tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre, popülasyonlar arasında incelenen tüm agro-morfolojik özellikler bakımından, istatistiki farklılıklar (Popülasyon, Yıl ve Popülasyon × Yıl)'ın olduğu belirlenmiştir. İncelenen parametreler bakımından yıllar ortalamasına bakıldığında, en düşük bitki boyu değeri Zanzan (118.6 cm) popülasyonu ve en yüksek bitki boyu değeri ise Ahvaz (173.6 cm) popülasyonundan elde edilmiştir. Araştırmada popülasyonların dane verimleri 75.45-190.58 kg/da, silymarin oranları %9.3-11.8 ve silymarin verimleri 7.46-20.08 kg/da değerleri arasında değişmiştir. İncelenen verim komponentlerinden en yüksek dane ve silymarin verimi Menemen popülasyonunda (sırasıyla 190.58 kg/da ve 20.08 kg/da) elde edilmiştir. En yüksek silymarin oranı ise Kermanshah popülasyonunda (%11.8) belirlenmiştir.

Denemede kullanılan 13 iPBS primerinin sonucunda toplam 93 bant ve bunların arasından 35 Polimorfik bant (%37.63) üretilmiştir. En yüksek PIC değeri iPBS-2391 (0.72), en düşük PIC değeri ise iPBS-2415 (0.31) primerlerinden elde edilmiştir. Tüm primerleri temsil eden ortalama PIC değeri ise 0.50 olarak hesaplanmıştır. Meryemana

dikenli bireylerinde, kümeleme analizden elde edilen dendrogramda popülasyonlar üç ana gruba, popülasyonun yapısını belirleme analizinde ise dört ana gruba ayrılmıştır.

Bu sonuçlar ışığında, Türkiye ve İran orijinli meryemana dikenli bitkilerinin çeşitliliği bakımından, zengin bir genetik kaynağa sahip oldukları belirlenmiştir. Var olan bu varyasyonun meryemana bitkisinde istenen özellikler bakımından üstün tiplerin seçilmesi ve çeşit geliştirmek amacıyla ıslah programlarında kullanılabilir oldukları ortaya çıkmıştır. Ayrıca, yürütülen bu çalışmada meryemana dikenli popülasyonları üzerinde daha önce hiç incelenmemiş olan iPBS markörü, genetik farklılıkların belirlenmesinde başarılı ve yararlı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Silybum marianum* L., silymarin, iPBS, fitokimyasal, agro-morfolojik

ABSTRACT**Investigation of Agro-morphological, Phytochemical and Molecular Diversities Among Some Turkish and Iranian Milk Thistle Populations (*Silybum marianum* L. Gaertn)**

TAGHILOOFAR, Amir Hasan

Ph. D. Thesis, Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Emine BAYRAM

February 2018, 159 Pages

This research was carried out to determine the genetic diversity among 17 Turkish and Iranian milk thistle populations and one registered variety with name of Budakalaszi using agro-morphological, phytochemical and molecular (iPBS) markers. The experiment was conducted in Experimental Farm of Department of Field Crops, Faculty of Agriculture in Ege University, according to randomized blocks design with four replications in 2013-2014 and 2014-2015 cultivation season. According to the results of study, there were statistical differences (Population, Year and Population $\times$ Year) in all agro-morphological characteristics examined among the populations. The lowest plant height value was obtained from Zanjan population (118.6 cm) and the highest plant height value was obtained from Ahvaz population (173.6 cm). In this research, grain yields of the populations ranged from 75.45 to 190.58 kg/da, silymarin ratio from 9.3 to 11.8% and silymarin yield from 7.46 to 20.08 kg/da. the highest grain and silymarin yields were obtained from Menemen population (190.58 kg/da and 20.08 kg/da, respectively). Also the highest rate of silymarin was determined in the Kermanshah population (11.8%).

As a result of 13 iPBS primers that used in the experiment were produced 93 bands in total and 35 polymorphic bands (37.63%) among them. The highest and lowest PIC value was obtained from iPBS-2391 (0.72) iPBS-2415 (0.31) primers, respectively. The mean of PIC value representing all primers was calculated as 0.50. populations Dendrogram that obtained from the clustering analysis in the milk thistle plants have been

divided into three main groups, and population structure analysis of populations have been separated to four main groups.

These results indicated that the milk thistle plants have rich genetic resource in term of diversity in Turkey and Iran. Existing this diversity in milk thistle population indicated that to be available in order to selection of superior types and to improve the variety in breeding programs in terms of the desired characteristics. Furthermore, this study shown that the iPBS marker, which has not been examined before hand on populations of milk thistle, could be used successfully and usefully in determining of genetic diversity of milk thistle.

Key words: *Silybum marianum* L., silymarin, iPBS, phytochemical, agro-morphological



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin başından bugüne kadar danışmanlığını yapan, bu tez çalışmasını hazırlamamda, bana her konuda yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesini paylaşan değerli Sayın Prof. Dr. Emine BAYRAM'a en içten ve tüm samimiyetimle şükranlarımı sunarım. Araştırmamda bilgi ve tecrübesiyle her zaman destek çıkan ve yardımlarını hiç esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Muhammed Bahattin TANYOLAÇ hocama da en içten şükranlarımı sunarım.

Araştırmada tez izleme komitesinde yer alan Sayın Prof. Dr. Aynur GÜREL hocama da en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın fitokimyasal kısmında her zaman yardımları ve yönlendirmelerinden faydalandığım Sayın Doç. Dr. Mehmet Zeki Haznedaroğlu hocama, araştırmanın analizleri esnasında işleri kolaylaştıran ve yardımda bulunan Sayın Dr. R. Refika GIACHINO'a teşekkür ederim.

Tezimin yazmasında her zaman destek ve yardımlarından faydalandığım değerli Sayın Dr. Çiğdem SÖNMEZ'e en içten Şükranlarımı sunarım.

Araştırma boyunca, E.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümü ve E.Ü.M.F. Biyomühendislik Bölümü imkanlarından yararlanmamı sağlayan hocalarıma, araştırmanın her aşamasında desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim. Doktora eğitimimde ve araştırmamda her zaman hayatımda olduğu gibi maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme en içten ve tüm kalbimle şükranlarımı sunarım.

Ayrıca 2014-ZRF-025 no'lu projenin yürütülmesine maddi olanak sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜRLER	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. Tıbbi Bitkiler (Genel Bakış)	11
2.2. Modern Bakış Açıları	12
2.3. Meryemana Dikeninin Kullanım Tarihçesi	13
2.4. <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertner'in Genel Özellikleri ve Sistematikteki Yeri	14
2.5. Ekolojik İstekleri ve Kontrolü	17
2.6. Yetiştirme Tekniği İle İlgili Çalışmalar	18
2.7. <i>Silybum</i> 'un Tıbbi Kullanımı Üzerine Araştırmalar	22
2.7.1. Meryemana dikenini ve karaciğer	24
2.7.2. Meryemana dikenini ve kanser	26
2.7.3. Meryemana dikenini ve neural etkileri	28
2.7.4. Meryemana dikenini ve tip II diyabet (Type II Diabetes)	29
2.7.5. Antioksidan özellikler	30
2.7.6. Anti- inflamatuvar aktivitesi	30
2.7.7. Mantar zehirlenmeleri	30
2.7.8. Meryemana dikenini ve veterinerlikte kullanım alanları	30
2.8. Bazı Agro- Morfolojik Çalışmalar	31
2.9. Moleküler Çalışmalar	33
2.10. Fitokimyasal Çalışmalar	43
2.10.1. Silymarin kimyası ve biyosentezi	44
2.10.2. Meryemana dikenini ekstraksiyonu	45
2.10.3. Günümüzdeki Metodoloji	46
2.10.3.1. Süper kritik sıvı ekstraksiyonu	46
2.10.3.2. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu	47
2.10.3.3. Mikro dalga yardımı ile ekstraksiyon (MAE)	49

2.10.4. Silymarin bileşen analizi	50
3. MATERYAL VE YÖNTEM	55
3.1. Materyal	55
3.1.1. Denemede kullanılan tohumluk materyali	55
3.1.2. Araştırma alanının iklim özellikleri	56
3.1.3. Deneme alanının toprak özellikleri	57
3.2. Yöntem	57
3.2.1. Tarla Denemesi ve Deseni.....	57
3.2.2. Laboratuvar Denemeleri.....	58
3.3. Agronomik ve Morfolojik Özellikler	58
3.3.1. Bitki boyu (cm)	58
3.3.2. Yan dal boyu (cm).....	59
3.3.3. Yan dal sayısı (adet).....	59
3.3.4. Yan dal açısı (derece).....	59
3.3.5. Ana sap çapı (mm)	59
3.3.6. Ana sap yaş ağırlığı (g)	59
3.3.7. Ana sap kuru ağırlığı (g)	60
3.3.8. Yaprak uzunluğu (cm).....	60
3.3.9. Yaprak eni (cm).....	60
3.3.10. Yaprak sapı eni (petyol) (cm).....	60
3.3.11. Yaprak sayısı (adet).....	60
3.3.12. Yaş yaprak ağırlığı (g).....	60
3.3.13. Kuru yaprak ağırlığı (g).....	60
3.3.14. Yaprak açısı (derece).....	61
3.3.15. Çiçek sayısı (adet).....	61
3.3.16. Ana tabla çapı (mm).....	61
3.3.17. Ana tabla ağırlığı (g)	61
3.3.18. Tek bitki çiçek ağırlığı (g).....	61
3.3.19. Ana tabla tohum sayısı (adet).....	61
3.3.20. Bitki başına tohum sayısı (adet/bitki).....	62
3.3.21. Ana tabla verimi (g/çiçek).....	62
3.3.22. Bitki başına tohum verimi (g/bitki).....	62
3.3.23. Bin dane ağırlığı (g)	62
3.3.24. Biyolojik verim (g/bitki)	62

3.3.25. Çiçekte diken uzunluğu (cm)	62
3.3.26. Dane verimi (kg/da)	63
3.3.27. Hasat indeksi (%)	63
3.4. Fitokimyasal Analizler	63
3.4.1. Silymarin oranı (%) belirlenmesi için ekstraksiyon yöntemi	63
3.4.2. Ekstraksiyon validasyonu	64
3.4.2.1. Ekstraksiyon kaynaklı kirlilik olasılığı	64
3.4.2.2. Ekstraksiyon tekrarlanabilirliği	64
3.4.2.3. Ekstraksiyonda geri kazanım	65
3.5. Moleküler Analizler	65
3.5.1. DNA izolasyonu	65
3.5.2. DNA izolasyonu için örnek öğütme aşaması	65
3.5.3. DNA izolasyonunda kullanılan yöntem	65
3.5.3.1. DNA izolasyonu tampon çözeltisinin hazırlaması (500 ml)	66
3.5.3.2. DNA izolasyonunda kullanılan protokol aşamaları (Healey et al., 2014)	66
3.5.4. İzolasyonu yapılmış olan DNA'ların konsantrasyon ve kalite belirlenmesi	67
3.5.4.1. DNA konsantrasyonun Nano Drop ile ölçülmesi	67
3.5.4.2. DNA saflık analizi için agaroz jel elektroforezi	67
3.5.5. DNA seyreltilmesi	68
3.5.6. Gradient PCR	68
3.5.7. Primer Seçimi	69
3.5.8. PCR reaksiyon karışımı	70
3.5.9. PCR koşulları	70
3.5.10. Elektroforez	70
3.5.11. Skorlama	71
3.5.12. PIC değerlerinin hesaplanması	71
3.5.13. Genetik yakınlığın belirlenmesi	71
3.5.14. Popülasyon yapısının belirlenmesi	72
3.6. Agro-Morfolojik ve Fitokimyasal Verilerin Değerlendirilmesi	72
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	73
4.1. Agro-Morfolojik Karakterler	73
4.1.1. Bitki boyu	75

4.1.2. Yan dal boyu (cm).....	77
4.1.3. Yan dal sayısı (adet/bitki)	78
4.1.4. Yan dal açısı (ana sap ve yan dal arasındaki aksil derecesi)	80
4.1.5. Ana sap çapı (mm)	81
4.1.6. Ana sap yaş ağırlık (g/bitki)	83
4.1.7. Ana sap kuru ağırlık (g/bitki)	84
4.1.8. Yaprak uzunluğu (cm).....	85
4.1.9. Yaprak eni (cm).....	86
4.1.10. Yaprak sapı eni (cm)	87
4.1.11. Yaprak sayısı (adet/bitki)	88
4.1.12. Yaş yaprak ağırlığı (g).....	90
4.1.13. Kuru yaprak ağırlığı (g).....	91
4.1.14. Yaprak açısı (koltuk) (ana sap ve yan dal arasındaki derece)	92
4.1.15. Çiçek sayısı (adet/bitki).....	94
4.1.16. Ana tabla çapı (mm).....	95
4.1.17. Ana tabla ağırlığı (g)	97
4.1.18. Bitki başına çiçek ağırlığı (g)	98
4.1.19. Ana tabla tohum sayısı (adet).....	99
4.1.20. Bitki başına tohum sayısı (adet)	101
4.1.21. Ana tabla tohum ağırlığı (g)	102
4.1.22. Bitki başına tohum verimi(g)	104
4.1.23. Bin dane ağırlığı (g)	106
4.1.24. Biyolojik verimi (g).....	108
4.1.25. Çiçekte diken uzunluğu (cm)	109
4.1.26. Dane verimi (kg/da)	110
4.1.27. Hasat indeksi (Hİ)	113
4.2. Fitokimyasal Analizler	114
4.2.1. Silymarin oranı (%).....	114
4.2.2. Silymarin verimi (kg/da)	118
4.3. Moleküler Analizler	120
4.3.1. DNA Saflık sonuçları	120
4.3.2. iPBS markör analizi sonuçları.....	121
4.3.3. PIC değerleri	122
4.3.4. Genetik yakınlığın belirlenmesi	122

4.3.5. Popölasyon yapısı	126
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	129
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	138
ÖZGEÇMİŞ.....	159





ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Meryemana dikenî tohumlarında bulunan silymarin bileşenlerin kimyasal yapıları.	23
3.1. Meryemana dikenî popülasyonlarının doğadan toplama aşaması.....	56
3.5. DNA örneklerinin saflıklarının belirlendiği agaroz jel elektroforezi görüntüsü.....	68
4.1 DNA örneklerinin saflıklarının belirlendiği agaroz jel elektroforezi görüntüsü.....	121
4.2 Meryemana dikenî popülasyonları arasındaki benzerliklere göre elde edilen dendrogram.....	124
4.3. Structure programından elde edilen verilere göre meryemana dikenî popülasyonları aralarındaki benzerliklere göre dağılımı.....	127



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Gresta et al., (2007), sonucuna göre, lokasyonlar arasında incelenen zellikler	33
3.1. Denemede kullanılan meryemana dikenli bitkisinin tohumlarının temin edildiği orijinler ve bunlara ait coğrafi bilgiler	55
3.2. Meryemana dikenli bitkisinin yetiştirme süresi boyunca Deneme alanına ait ortalama sıcaklık ve toplam yağış miktarı	56
3.3. Deneme alanına ait toprağın kimyasal içeriği ve fiziksel özellikleri	57
3.4. Denemeye ait çimlenme, çiçeklenme ve hasat tarihleri	58
3.5. Gradient PCR işlemi için reaksiyon basamakları, süresi ve sıcaklıkları	68
3.6. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarında primer seçimi amacıyla kullanılan primerler	69
3.7. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarının moleküler analizlerinde seçilmiş olan primerler	69
3.8. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarının moleküler analizlerinde kullanılan PCR koşulları	70
4.1. Denemede incelenen parametrelere ait kareler ortalamaları, istatistikî önem düzeyleri ve genel ortalamalar.	74
4.2. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait bitki boyu (cm), ortalamaları.	75
4.3. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yan dal boyu (cm), ortalamaları.....	78
4.4. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yan dal sayısı (adet/bitki), ortalamaları.....	79
4.5. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yandal açısı (derece), ortalamaları.....	81
4.6. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana sap çapı (mm), ortalamaları.....	82
4.7. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana sap yaş ağırlığı(g), ortalamaları.....	83
4.8. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana sap kuru ağırlığı(g), ortalamaları.....	85

ÇİZELGELER DİZİNİ (devamı)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.9. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak uzunluğu (cm), ortalamları.....	86
4.10. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak Eni (cm), ortalamları.	87
4.11. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak Sapı Eni (cm) ortalamları.....	88
4.12. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak Sayısı (adet/ bitki), ortalamları.....	89
4.13. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaş yaprak ağırlığı (g), ortalamları.....	91
4.14. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait kuru yaprak ağırlığı (g), ortalamları.....	92
4.15. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak açısı (derece), ortalamları.....	93
4.16. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait çiçek sayısı (adet), ortalamları.....	94
4.17. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla çapı(mm), ortalamları.....	96
4.18. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla ağırlığı (g), ortalamları.....	98
4.19. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait bitki başına çiçek ağırlığı (g), ortalamları.....	99
4.20. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla tohum sayısı (adet) ortalamları.....	100
4.21. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait bitki başına tohum sayısı (adet) ortalamları.....	102
4.22. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla tohum ağırlığı (g) ortalamları.....	103
4.23. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait Bitki başına tohum verimi(g) ortalamları.....	105

ÇİZELGELER DİZİNİ (devamı)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.24. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait bin dane ağırlığı (g) ortalamları.....	107
4.25. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait biyolojik verim (g) ortalamları.....	108
4.26. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait çiçek diken uzunluğu (cm) ortalamları.....	110
4.27. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait dane verimi (kg/da) ortalamları.....	111
4.28. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait hasat indeksi (%) ortalamları.....	114
4.29. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait silymarin oranı (%) ortalamları.....	116
4.30. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait silymarin verimi (kg/da) ortalamları.....	119
4.31. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait moleküler analizlerden (iPBS markör) elde edilen polimorfik oranı (%)	122
4.32. iPBS markör analizleri sonucu oluşan faktör grupları	123
4.33. Meryemana dikenî popülasyonlarında İpbs primerlerine ait PIC değerleri	123
4.34. Araştırma materyaline ilişkin Şekil 4.3'te verilen numaralara ait popülasyonlar ve kökenleri	127



1. GİRİŞ

Evrım ve bitki ıslahı, iki nedenden dolayı birbirleriyle bağlantılıdır; birincisi, bitki ıslahının “insan tarafından yönlendirilen evrim” olarak tanımlanması ve ikincisi, her iki işlemin de biyoçeşitlilik temelini oluşturmaları ve bunlar üzerinde önemli bir etkisi olmasıdır (Ceccarelli, 2009).

Bitkiler insanlık tarihinin ayrılmaz bir parçasıdır. Gıda, sanayi, din ve tıp için 40.000-100.000 bitki türünün düzenli olarak kullanıldığı tahmin edilmektedir. Tarımın başlangıcını evcilleştirme öncesi, bitki gelişimi, adaptasyon ve doğal seleksiyon ilkelerini takip etti; Bunlar çeşitli metin kitaplarında ayrıntılı olarak ele alınmıştır ve bu nedenle bunlardan kısaca bahsetmek gerekirse; biyolojik evrimi, bir popülasyondaki kalıtsal özelliklerin bir nesilden diğerine geçişi olarak tanımlarsak, onun ana itici güçlerinden biri, yeni genlerin üretilmesi ve dolayısıyla yeni genetik varyasyon yaratılmasına neden olan mutasyondur. Mutasyon rastgele ve nadir bulunan bir fenomen olduğundan, sadece birkaç üye etkilenir ve bu uzun vadede (evrim her zaman uzun vadeli) genetik farklılıkların gelişimine yol açar. Bazı ortamlarda bu farklılıklar ortam koşullarına göre tarafsızdır. Diğer ortamlarda, çeşitli avantaj dereceleri olarak ilişkili olabilirler ve bazıları değişik derecelerde dezavantajlara sahiptirler. “Avantaj” evrimsel anlamda daha fazla nesli olan anlamına gelir. Bu nedenle, bazı avantajlar sağlayan genlerin sıklığı, zamanla birlikte artarken, dış koşullar değişmediği sürece, dezavantajlarla ilişkili genlerin sıklığı azalacaktır. Dış koşulların tersine çevrilmesi ve bu arada genin kaybolmaması durumunda gen frekanslarındaki bu değişiklikler bile orijinal değerlerine dönebilir. İki güç, doğal seleksiyon ve göç, aynı zamanda genlerin frekansını değiştirir ve böylece evrimi yönlendirir. Ayrıca, gen frekanslarındaki rasgele değişiklikleri önlemek için, minimum popülasyon büyüklüğünün korunması da önemlidir (Ceccarelli, 2009).

Stahls (1888)’ın bitki biyokimyası üzerine yaptığı çalışmalarında, primer ve sekonder metabolizma arasında bir ayrım önermiştir. Temel metabolizma; solunum, besin asimilasyonu, büyüme ve gelişme için gerekli olan anabolik ve katabolik prosesleri, yani hücre gelişme ve çoğalması için gerekli olan işlemleri ifade etmektedir. Buna karşılık, sekonder metabolizma, hücrelerin hayatta kalması için gerekli olmayan, ancak çevredeki bitkilerin hayatta kalması için gerekli

olduğu düşünölen özelleşmiş hücrelerde bulunan bileşikleri belirtmektedir. Bu bileşiklerin, böcek herbivor ve patojen saldırılarını önleyerek bitki sağlığında yardımcı olduklarına inanılabileceği gibi çiçek aroma veya renklendirici olarak polinatör çekimini sağlayarak üremeye yardımcı olduğu düşünölmektedir. Sekonder metabolitler için oldukça farklı biyolojik aktivitelere sahip olması, bitkilerin geniş bir bileşik katalogu biriktirmesine neden olmuştur. Bu katalog vasküler bitkilerde en az yüz bin sekonder metabolit içermektedir (Wink, 1988).

Yapı bakımından çok farklı olan bitkiler biyolojik olarak aktif doğal ürünler için önemli kaynaklardır. İlaç endüstrisi tarafından ilaç olarak kullanılan çeşitli bileşiklerin orijinal kaynağıdır. Terapötik potansiyeli olan doğal ürünleri tanımlama amacıyla, popüler kullanımdaki bitkiler üzerinde çok araştırma yapılmıştır ve yapılmaktadır (Hamburger and Hostetmann, 1991; Weisburger et al., 1996; Bae et al., 2002). Ayrıca, tıbbi bitkiler bir kanser kemoprevansiyon olmasına adaydırlar, çünkü karsinogenez süreci başlatılması, terfi edilmesi ve ilerlemesi üzerinde engelleyici etkilere sahip kimyasal önleyici ajanlara sahip olabilmektedirler (Wattenberg, 1985; Surh and Ferguson, 2003). Bu sebeplerden dolayı, bitkiler her zaman önemli bir ilaç kaynağı olarak ilgi merkezinde olmaktadır. Sentetik ilaçlar için belirlenen kriterleri ve normları takiben bitkilerden elde edilen ilaçlar, mutajenik ve/veya kanserojen madde olasılığı açısından araştırılmıştır. Bitki bileşiklerinin sitotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkilerinin saptanması ve değerlendirilmesi, bu zararlı etkilerin olası risklerini azaltmak için temel önem taşımaktadır. Doğal kanserojenlerden çok az bir kısmı incelenmiştir, ancak bu araştırmalar sonucunda insanlar tarafından tüketilen bitkilerin çoğu, orta veya uzun vadede zehirli etkilere sahip olabilirlikleri ifade edilmiştir (Gold, 1987). Modern ilaç endüstrileri, yeni ilaç araştırmaları için bitkilerden gelen sekonder metabolitlerin çeşitliliğinden büyük ölçüde yararlanmaktadır.

Bitkiler, fotosentez, transpirasyon ve solunum gibi birinci metabolitler grubu altında yer almayan çok sayıda sekonder metabolit bileşikler üretmektedirler. Sekonder metabolitler, ilk başta atık ürünler olduğu düşünölürken, gerçekte ise bu bileşikler bitki içinde çeşitli önemli roller üstlenmektedirler. Bazı bileşikler, bitkileri herbivor, böcek veya patojenlere karşı koruma sağlarken diğler fonksiyonlarından ise polinatörleri cezbe etmek ve bir sekonder metabolit içeren bitkinin bitkilerle olan rekabetini azaltmak için

allelomatik işlevleri yerine getirmektedirler (Hadacek, 2002). Sekonder metabolitler, sadece bitkiler içindeki kendine özgü işlevleri yerine getirmesi değil belki bu işlevlerin yanı sıra, aynı zamanda insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle büyük ilgi çekmektedirler. Bitkilerde koruyucu amaçlarla işlev gören birçok sekonder metabolit, antimikrobiyal veya tıbbi özelliklere sahiptir (Bourgau et al., 2001). Kaydedilen tarihten beri, insanoğlu bu bileşiklerin özelliklerini tanımış ve bitkileri çeşitli tıbbi amaçlar için kullanmaya başlamıştır. Bitkilerde üretilen sekonder metabolitlerin seviyeleri çevresel ve genetiksel olarak kontrollü olabilmektedir (Singh et al., 2003).

Bitkiler tarafından çok sayıda sekonder metabolitler adında üretilen komponentler vardır ki bu bileşenler fotosentez, transpirasyon ve respirasyon gibi primer metabolitlerin üretim proseslerinin ürünlerinden değildir. Sekonder metabolitler bitkilerin primer metabolizmalarının biyokimyasal yollarından türevlenip meydana gelmektedir. Halbuki sekonder metabolit ile ilgili önceden bitki metabolizmasında atık ürünler oldukları düşünülürken, şimdi çok sayıda araştırma sonucunda bitkiler âleminde bu bileşenlerin çok önemli rol oynadıkları ortaya çıkmıştır. Çoğu zaman sekonder metabolitler bitkileri herbivorlara, böceklerle ve patojenlere karşı korudukları ispatlanmıştır (Hadacek, 2002). Sekonder metabolitlerin diğer fonksiyonlarından, polinatörleri cezbetmek ve bitkilere karşı allelopati etkileri ile aralarındaki rekabeti hafifletmek gibi işlevleri de üstlendikleri ifade edilmiştir (Hadacek, 2002). Ayrıca sekonder metabolitlerin UV radyasyonu hasarına karşı koruyucu bir madde olduğu da söylenmektedir. Sekonder metabolitlerin diğer işlevlerinden biri ise yaprakların yaşlanma döneminde primer metabolizmanın ürettiği ürünlerin fazlasını sekonder metabolitler şeklinde depolanmış olan bileşenleri tekrar primer metabolitlere dönüştürüp, kullanabilir hale getirebilmektedir (Wills et al., 2000). Diğer bir araştırmada ise bu bileşenlerin bitkilerin üreme ve yaşlanmalarını sürdürebilmelerinde gerekli bileşenler olduğu saptanmıştır (Wills et al. 2000).

Bitkilerden üretilen sekonder metabolitlerin miktarı genetiksel faktörlerden etkilendiği kadar çevresel faktörlerden de etkilenmektedir (Singh et al., 2003). Ayrıca sekonder metabolitler bitkilerin familyaları arasında da farklılık göstermektedir. Örneğin, Laminaceae familyasında bulunan iroidler ve uçucu yağlar diğer bitki familyalarında genel olarak bulunmamaktadırlar. Solanaceae familyasında yer alan bitkiler, tropane ve stroidal alkaloid içermektedir. Bitkilerin

familya ve cinsler arasında olan bu biyokimyasal farklılıklar, bitkilerin phylojenetik bölgelerine bağlı olabilmekte ve ekolojik koşullardan da etkilenmektedirler. Bitkilerde sekonder metabolitlerin farklı kombinasyonlarda gelişmesi bitkiye çevreye adaptasyon sağlamasının imkanını vermektedir (Wink, 2003).

Sekonder metabolitlerin, bitkiler arasında olan benzersiz etkilerinin yanı sıra insan sağlığı üzerine etkili olan potansiyeli nedeni ile de kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır. Çok sayıda tıbbi ve antimikrobiyal fonksiyon özelliğine sahip olan sekonder metabolitler bitkileri çevreden gelebilecek etkilere karşı korumak amacıyla üretilmektedir. Çoğu farmasötik aktivitelere sahip olan bitkisel sekonder metabolitler, shikimate, acetate-malonate ve acetate-mevalonate yollarından meydana gelmektedir.

Terpenoidler (saponinler, karotenoidler, steroidler), fenolikler (flavonoidler, tanenler, kuininler, salisilatlar, ligninler), alkaloidler, polisakkaritler ve peptidler sekonder metabolitler sınıfında yer almaktadırlar. Ayrıca çok önemli kimyasal bileşenleri olan uçucu yağlar ve rezinler, sekonder metabolitlerin çeşitli sınıflarında yer almaktadırlar (Wills et al., 2000).

İnsanlar tarih boyunca bitkiler içerisinde bulunan bu bileşenlerin tanınması için çaba göstermiş ve sekonder metabolitleri tıbbi amaçlarla kullanmışlardır. Çok sayıda sekonder metabolitin ilaç potansiyellerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar günümüzde halen devam etmektedir (Wills et al., 2000; Singh et al., 2003).

İnsanların doğal ve bitkisel ilaçlara ilgileri olduğu ve onlardan yararlanmaları için çok sayıda neden bulunmaktadır. Birinci neden, tüketicilerin daha çok doğal yollarla yaşamlarını sürdürmek istedikleri için ilgi göstermeleridir. Dünyamızda ve etrafımızda çeşitli ve farklı költürlere ait insanlar vardır ki bu insanların çoğu atasözünde geçen köklerine dönmeyi arzu etmektedirler. Modern veya sentetik ilaçlarla tedavi olan hastaların, tedavide kullanılan bu ilaçların fiyatının gün geçtikçe daha pahalı olmasının yanı sıra istenilmeyen veya tehlikeli yan etkileri nedenleri ile de memnuniyetsizlikleri artmaktadır. Gelişmiş ölkeler de özellikle de Amerika halkı boş zamanlarında fitnes ve sağlıklı yaşam için daha çok zaman harcadıkları algılanmaktadır. Ayrıca içtimai teşekküllerde daha büyük yaşlarda doğum yapma tercih edildiği için aktif ve sağlıklı yaşamlarını daha uzun sürdürebilmeleri ilgi çekicidir ve önem taşımaktadır (Brevoort, 1996).

Komplementer/ Alternatif Tıp (CAM) sadece bitkilerle tedavi olmak demek değildir, akupunktur, refleksoloji ve kayropraktik bakım gibi tedavi yöntemleri de bu kategori altında yer almaktadır. Son yıllarda yapılan üç anket çalışması, CAM'ın kullanımında bir artış olduğunu ve sağlık uzmanlarının CAM'in özellikle bitkisel ve diyet takviyeleri hakkında bilgi ve kullanımında anlamlı olmayan bir yükseliş olduğunu göstermektedir. Madsen et al., (2003), Danimarka'da yaptıkları çalışmada, CAM kullanımını profilleyen pediatrik hastalar (yaş 0-18) üzerine bir anket düzenlemişlerdir. Anket sonuçlarına göre, görüşülen kişilerin % 53'ü en az bir kez CAM kullanmış ve % 23'ü takip eden ay içerisinde CAM'ı denemiş olduğu belirlenmiştir (% 15'i bitkisel ilaçlardan kullanmıştır). Hastaların % 50'sinde pozitif etkiler olduğunun yanı sıra % 6'sı ise tedavinin yan etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, araştırmacılar, Danimarka'da ve diğer ülkelerdeki yapılan önceki çalışmalara göre CAM kullanımında %53'lük artış olduğunu belirtmişlerdir.

Kemper et al., (2003), Boston'da yaptıkları araştırmada, doktorlar (MD), ileri düzey pratisyen hemşireler (RN), eczacılar (PharmD) ve diyetisyenler (RD) dahil, MA alanındaki sağlık profesyonellerine ilişkin kesitsel bir anket hazırlamışlardır. Görüşülen kişilerin % 66'sı bir önceki yıl bitkisel ve diğer besin takviyeleri (H/DS) hakkında mesleki eğitim aldıklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, H/DS ilaçları hakkındaki ankette, en yüksek skora gruba (diyetisyenler) olası puanların ortalama % 60'ından daha az puan aldıkları saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, sağlık çalışanları tarafından tüketici veya hastanın bitkisel tedavileri için artan bilgi ve ilgisine rağmen, sağlık çalışanlarının çoğunun, bitkisel veya diğer diyet takviyeleri hakkında yeterli bilgiye veya ilgiye sahip olmadığını göstermektedir.

Washington DC'de, 2007 yılında, Georgetown Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde birinci ve ikinci sınıf tıp öğrencilerinin üzerine yapılan bir anket çalışmasında, Tıp Fakültesi müfredatında ve ilerideki uygulamalarında CAM'a karşı tutumlarını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada CAM, akupunktur, bitkisel ilaç, beslenme takviyeleri, biofeedback, biyoelektromanyetik terapiler, aromaterapi, homeopati, kayropraktik, masaj, hipnoz, manevi iyileşme (rehberli görüntü, müzik, namaz), rolfing (yeniden yapısal bütünleşme), terapötik dokunma ve meditasyon yöntemlerini içermektedir. Öğrenciler, 15 yöntemin 11'inde istenen eğitim seviyesinin hastalara kullanım hakkında tavsiyeler vermek için yeterli

olduğunu belirlemiştir (Chaterji et al., 2007). Araştırmacılar, öğrencilerin % 91'inin Batı tıbbi için CAM'da yer alan fikir ve yöntemlerin fayda sağlayabileceğine karar verdiklerini keşfetmişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda, % 85'in üzerinde öğrenci "CAM hakkında bilgi, benim için bir öğrenci / geleceğe yönelik pratik sağlık profesyonelleri olarak, önemlidir" ve öğrencilerin % 75'inden fazlası CAM'ı müfredata dahil etmeyi düşünmekteymiştir. Bu çalışmada, en yüksek ilgi alanı akupunktur, kayropratik, bitkisel ilaç ve besin takviyelerinede olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada yazarlar, öğrencilerin CAM'e karşı ilgi ve istek gösterdileri ifadesinde bulunmuşlardır. Ancak anket grubundaki kişilerin bu konu ile ilgili kişisel deneyimlerinin çok yaygın olmadığı belirlenmiştir (Chaterji et al., 2007).

Günümüzde, bitkisel ilaçlarla tedavinin bir diğer problemi standardizasyon eksikliğidir. Özellikle, alternatif ilaçlarla kendilerini tedavi eden ve gitgide bu ilaçların kullanılmasına kendileri karar veren tüketicilerin sayısındaki artış göz önüne alındığında da bu konunun önemi daha belirgin bir şekilde algılanmaktadır (Elvin-Lewis, 2001). Bileşenler için standardizasyon problemi, bitkisel kaynaklı ürünler için risk-fayda profillerinin olmamasıdır. Risk- fayda profilleri, bitkisel ilaçlar kullanılarak yayımlanan kontrollü sistematik klinik araştırmaların gözden geçirilmesiyle oluşturulabilmektedir. Bu profiller, bitkiler ve bitkisel ilaçların olumsuz yan etkileri ile reçeteli ilaçlarla bilinen herhangi bir kontrendikasyon hakkında bilgi vermektedir (Ernst, 2002).

Farmakovijilans, "büyük topluluklarda pratik klinik koşullar altında piyasaya sürülen ilaçların güvenliğinin araştırılması" olarak tanımlanmaktadır (Mann and Andrews, 2002). Farmakovijilans uygulamaları, farmasötik ilaçların güvenliğini ve sağlıklı üretim uygulamalarını kontrol etmek için geliştirilmiştir. Bu standartların bitkisel ilaçlar için de oluşturulması gerekmektedir. Risk-fayda profillerine ek olarak, farmakovijilans olumsuz ilaç reaksiyonlarının gözlemcisi olup, ilaç güvenliği ile ilgili endişeleri yanıtlar ve iletir. Bu uygulamalar, bitkisel materyalleri, ilaç grubu adı altında yer almasına ve standart yöntemlerinin gelişmesine yardımcı olabilir. Bunlar, bitkilerdeki tıbbi bileşenlerin kalitesi ve miktarı, cinsler arası veya tür içi değişiklikler, çevresel faktörler (iklim, büyüme koşulları), hasat zamanı (hatta günün saatına göre değişebilir) ve hasat sonrası faktörleri de (depolama, kurutma vb.) dahil olmak üzere bu etkenlerden etkilenebildiği için son derece önemlidirler (Barnes, 2003).

Bitkisel ilaçların kullanımındaki bir başka önemli husus ise reçeteli ve reçetesiz ilaçlarla olumsuz etkileşimlerdir. Örneğin, aspirin gibi non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİI'ler) antiplatelet aktiviteye (ginkgo, söğüt, zencefil ve sarımsak gibi) sahip olan veya kumarin içeren (papatya ve at kestanesi gibi) bitkiler ile alındığında kanama riskini artırma potansiyeline sahiptir. Ayrıca, asetaminofen, ginkgo ile birlikte alındığında, trombosit agregasyonunda azalmaya neden olması ile kanama riskini artırabilir. Asetaminofen kendisi, hepatotoksik özelliklere sahiptir ve karaciğere stres yaratabilecek kava biberi (kava-kava) ve ekinezya (*Echinacea*) gibi bitkilerle birlikte kullanıldığında ciddi karaciğer hasarına neden olabilir. Ayrıca, asetaminofen, aynı zamanda söğüt ve çayır yumağı gibi salisilat içeren bitkilerle birlikte alındığında da nefrotoksisite etkileri ortaya çıkması mümkündür (Abebe, 2002).

Ayrıca, bazı tıbbi bitkiler ise, reçeteli ilaçların etkinliğini azaltabilir. Örneğin, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) amitriptilin, siklosporin, digoksin, indinavir, fenprokon, teofilin ve varfarinin'in kan konsantrasyonunu düşürür. Sarı kantaron, oral kontraseptifler (etinilestradiol / desogestrel) ile eşzamanlı olarak alındığında, loperamid veya seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar), adet kanaması, deliryum veya hafif serotonin sendromu ortaya çıkabilir. Bu tür etkileşimler ve kontrendikasyonlar, tedavi için bitkisel ilaç kullanılmaya karar verildiği zaman düşünülmesi gereken kritik öneme sahip olan konulardandır (Izzo and Ernst, 2001).

Çok sayıda tıbbi bitki antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Bu bitkilerin kullanılmasında, antibiyotik direncinin artırılması olasılığı dikkate alınması gereken hususlardan birisidir. Ward et al. (2002), yaptıkları araştırmada, farklı bitki ve nutrasötik ürünlerin gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerinde antibiyotik direnci etkilerini incelemişlerdir. Bu denemede bakterilere uygulanan antibiyotiklerin (ampisilin) minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) çeşitli nutrasötikler preparatlarında kaydedilmiştir. Bu araştırmanın sonucuna göre, hazırlanan ilaçların 13'ünde MIC'de artış görülürken, iki preparatta azalma, yedisinde de değişiklik olmadığı saptanmıştır. Sarımsak, ekinezya ve çinko ürünlerinin hepsi MIC'de büyük artışlara neden olduğu saptanmıştır. Bitkisel preparatlar ile çalışma ve / veya çalışmanın olası negatif veya sıkıcı yönlerine rağmen, tıbbi fitokimyasallar, biyokimyasal reaksiyonlar için substratlar; Enzimatik reaksiyonların kofaktörleri; Enzimatik reaksiyonların inhibitörleri;

Bağırsaktaki istenmeyen bileşenlere bağlanan ve bunları ortadan kaldıran emici maddeler ya da saklayıcı maddeler; Hücre yüzeyini veya hücre içi alıcıları agonize veya antagonize eden ligandlar; Reaktif veya zehirli kimyasalların temizleyicileri; Gerekli besin maddelerinin emilimini ve / veya stabilitesini arttıran bileşikler; Yararlı gastrointestinal bakteriler için selektif büyüme faktörleri; ve zararlı bağırsak bakterilerinin selektif inhibitörleri gibi birkaç farklı sağlık yararları etkilerini de gösterebilmektedirler (Dillard and German, 2000).

Silybum marianum (L.) Gaertner, aynı zamanda Türkçede meryemana dikenini olarak da bilinir ve hepatoprotektan flavonolignanları içeren bir tıbbi bitkidir. *Silybum*'da bu tıbbi özellikleri sergileyen flavonolignanlar topluca silymarin adıyla bilinmektedir. İlk başta silymarin'in büyük ve kompleks bir molekül olduğu düşünülüyordu. Bununla birlikte, 1974 yılında silymarin'in aslında birkaç flavonolignan karışımı olduğu bulunmuştur (Wagner et al., 1974). Flavonolignanlar, flavonoid dihidroquercetin'in (diğer adı taxifolin) serbest radikal'ı ile koniferil alkolün (lignan'ın bir bileşeni) oksidatif bağlanmasıyla oluşurlar (Kim et al., 2003; Kurkin, 2003). Bu reaksiyon silymarinin en önemli biyoaktif bileşeni olduğu düşünülen silybin ve regioizomerler ile diastereomerlerinin karışımı oluşturur (Kurkin, 2003). *Silybum*'daki üç ana flavonolignan, silybin (silybinin olarak da adlandırılır), silychristin ve silydianin olarak bilinmektedir. Ayrıca, silybin'in diastereomerleri (silybin A ve B) izole edildiği gibi, silybin'in rejyoizomerleri olarak izosilybin A ve B de izole edilmiştir (Lee and Liu, 2003). 2006 yılında, silychristin'in (şimdi silychristin A olarak da bilinir) bir diastereomeri keşfedilmiş ve silychristin B olarak adlandırılmıştır (Martin et al., 2006). Diğer az miktarda olan bileşikler arasında dehydrosilybin, desoxysilychristin, desoxysilydianin, silybinome, isosilychristin, silymonin, silandrin, silyhermin ve neosilyhermins A ve B bulunur. Bu bileşikler bitkinin çeşitli kısımlarında bulunur, ancak tohumlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. *Silybum*'da bulunan bileşikler, karaciğer problemlerini önlemenin yanı sıra, akut karaciğer zehirlenmesi veya kronik hastalığı tedavisine kullanılabilir. Çeşitli tipteki kanserlerin tedavisinde, kolesterolün kontrol altına alınmasında, sinir sisteminin sağlığının teşvik edilmesinde ve tip II diyabetik hastalarda kan şekerinin düzenlenmesinde meryemana dikenlerinin kullanımı hakkında da araştırmalar yapılmıştır.

Bugüne kadar meryemana dikenini bitkisinde, genetik ıslahı sadece bitki

davranışları ve yabancı popülasyonlar arasında görünen farklılıklara dayalı olan seleksiyonlara göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaca yönelik genotipler veya popülasyonların çevre veya iklim koşullarına maksimum adaptasyon sağlayabilirlikleri de seleksiyonu etkileyebilmektedir (Gresta et al., 2007; Karkanis et al., 2011). Meryemana dikenli bitkisi çok önemli ve benzersiz tıbbi özelliklere sahip olmasına rağmen, yapraklar ve çiçeklerde bulunan odunsu ve iğne uçlu dikenler nedeniyle bu bitki üzerine yapılmış olan ıslah çalışmalarının sayısı çok azdır (Gabay et al., 1994). Ancak geçmiş zamanlarda Almanya gibi bazı ülkelerde bu bitki üzerine yapılmış olan bazı ıslah çalışmaları sonucunda çok az sayıda çeşit tescilli gerçekleşmiştir (Carrubba and Torre, 2003; Andrzejewska et al., 2011). Meryemana dikeninde önceki çalışmalar ve bu alanda olan araştırmacıların ifadesine göre, bu bitkinin ıslahına yönelik bazı önemli prensipleri aşağıdaki gibi özetleyebiliriz:

Farklı jeografik bölgelere ait olan yabancı popülasyonlar bir gen kaynağı oluşturmaktadırlar ve bu kaynaklar meryemana dikenli ıslahında yararlı bir şekilde kullanılabilirler (Shokrpour et al., 2007 a).

Ayrıca moleküler markörler, meryemana dikeninin geleneksel ve moleküler yolları ile ıslahına yönelik uygun popülasyonların seleksiyonunda yararlı olabilmektedir (Mohammadi et al., 2011).

Tıbbi bitkilerde yeni bir çeşit ıslahında, verim ve kalite açısından yüksek performansa sahip olan tek bitkiler mümkün oldukça çok sayıda kaynaktan seçilebilirler. Yeni bir çeşit tescilinde, bu tek bitkiler, daha sonra ticari üretim yerini alacak olan, aynı toprak ve iklim koşullarında test edilir. Bir sonraki adım, seçilen bitkilerin her birinden, kendine döllenme yoluyla, “dölleri” üretmek için ve tek tip hat elde edilene kadar tekrar 4 ila 7 nesil boyunca sadece iyi olanlar seçilir (Dudai, 2012). Moldova Cumhuriyeti'nde geliştirilmiş olan Argintiu çeşidi ile ilgili Goncariuc (2007) şunu rapor etmiştir: bu çeşit farklı kökenli olan hatları kendilerine döllendirme ve bu kendine döllendirmiş olan hatlar arasında F2-F4 nesilleri arasında yapılmış olan polycross hibridizasyonundan elde edilen bitkiler arasından yapılmış olan seleksiyonla elde edilmiştir. Bu çeşidin erkencilik, yüksek verim, orta boy (136 cm), kısa çiçeklenme süresi, homojen olgunlaşma, kuraklık ve hastalığa direnç açısından avantajları olduğunu ifade etmiştir.

Meryemana dikenli ıslahında yaklaşımlar, tohum ve silymarin veriminin artışı, biyotik ve abiyotik streslere karşı dayanıklı veya tolere edebilecek çeşitlerin

ıslahı, eşzamanlı çiçeklenen çeşitlerin geliştirilmesi, dikenler, çiçek ve tohumların dökülmesini azaltmaktır (Alemardan et al., 2013).

Meryemana diken bitkisinde çok sayıda farklı genotip mevcuttur. Tohum sayısı ve ağırlığı, meryemana dikeninin verim komponentleri arasında en önemlisidir (Shokrpour et al., 2011).

Ayrıca, birincil ve ikincil çiçekler arasında olan çiçek ağırlığı varyasyonu, uygun yönetim ve ideotip (ideotype) bitkiler tasarımı ile çiçek veriminin artışı ile birlikte ikincil dalların sayısını düşürmek ile mümkün kılınabilmektedir (Gresta et al., 2007).

Meryemana diken bitkisinin ıslahının temel amacı, yüksek verimli çeşitlerin geliştirmesidir. Farklı meryemana diken genotiplerinde bulunan genetik çeşitlilik, yüksek silymin içerikli yüksek verimli genotiplerin geliştirilmesinde kullanılabilecek en iyi kaynaktır. Ayrıca ıslah programlarında, yabani genotipleri hızlı bir şekilde değerlendirilmesinde, moleküler markörler etkili bir araç olarak kullanılabilmektedir (Alemardan, 2013).

Bu araştırmanın amacı, meryemana diken bitkisinin ıslahına yönelik ve bir ıslah programının başlangıcı olarak Türkiye ve İran orijinli bazı meryemana diken (*Silybum marianum* L. Gaertn) popülasyonlarında seleksiyon yapabilmek amacıyla agro-morfolojik, fitokimyasal ve moleküler farklılıkları belirlemektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Tıbbi Bitkiler (Genel Bakış)

Antik Çin, Hint ve Yakın Doğu kültürüne ait olan yazılı belgelere dayanarak insanoğlunun 5000 yılı aşkın süredir bitkileri tıbbi amaçlarla kullandığı ortaya konmuştur. Belki de bitkilerden ilaç elde etmek, insanoğlunun varoluşundan itibaren başlamıştır (Hamburger and Hostettmann, 1991). Günümüzde çok sayıda ticari ilaçların altyapısı bitkilerde keşfedilen bileşenlere dayanmaktadır. Halen de bitkiler geniş kapsamda bazı bileşenler içermektedir ve bu bileşenler yeni sentetik ilaçların ilham kaynağı potansiyeline sahip olabilmektedirler. Tıbbi amaçlarla kullanılan bitkiler içerisinde, bazen bitkinin tamamı, bazen de bir kısmı sekonder metabolitler içermektedir. Son 50 yıldan beri tıbbi bitkilerin asıl bileşenleri ile biyolojik aktivitelerinin incelenmesi üzerine bilimsel analitik yöntemler kullanılarak yapılan araştırmaların sayısı gittikçe artmaktadır. Tıbbi bitkiler üzerine yürütülen araştırmalar da, kromatografi (TLC, GC, HPLC), spektrofotometre (UV, IR, 1H-ve 13C-NMR, MS) ve biyolojik analiz teknikleri (çeşitli biyoeseyler), bitkilerin yetiştirme alan ve süreçlerinde kullanılmaktadır. Son yıllarda bitkiler üzerinde yapılan araştırmaların sonucuna dayanarak bitkilerin anti kanser, anti-inflammatör, immünostimülatör, antimikrobiyal ve antibiyotik özelliklere sahip oldukları ispatlanmıştır. Ayrıca bu bitkilerde olan ilaç potansiyelinin öngörümü, bu alanda yapılan araştırmaların devam edilmesinin gereğini vurgulamaktadır (Phillipson, 2003).

Almanya’da 1980’li yıllardan beri geniş kapsamda tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçlar üzerine araştırmalar yürütülmektedir. Ayrıca 300’ü aşkın klinik araştırmada *Silybum*, *Echinacea*, *Aesculus*, *Hypericum*, *Ginkgo*, *Valeriana*, *Allium sativum*, *Viscum*, *Sabal*, *Urtica*, *Crataegus* ve kava biberi gibi standardize olmuş fitofarmasötikal ürünler kullanılmıştır. Bu araştırmalarda hazırlanmış olan ürünlerin, hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde etkileri incelenmiştir. Çok sayıda yapılan araştırma sonucunda bitkisel ilaçların etkisi, yan etkisi olmadan sentetik ilaçların etkisi ile aynı olduğu ispatlanmıştır. Bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkisel ekstraktların sentetik ilaçlarla karşılaştırıldığında daha çok etkisi olduğu kabul edilmiştir. Bitkisel ilaçlar aynı anda farklı veya

çeşitli özelliklere sahip olabilmektedirler ve bu özellikler bitkilerin etkisini güçlendirip veya aynı anda farklı etkileri ortaya çıkarmaktadırlar (Wagner, 1999). Bitkisel ilaçların bileşenleri arasında meydana gelen sinerjik interaksiyonlar çok büyük önem taşımaktadırlar. Çoğu zaman sinerjizm, hazırlanmış olan ilacın etkinliğini özellikle de düşük dozlarda kullanılması gerektiğini açıklamaktadır. Bir bitkisel matris ilaçtan bir komponent izole edildiğinde, karışım içerisinde olduğu durumuyla karşılaştırıldığında biyoaktivite veya etkinliği daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu konu hem tek bitkiden hazırlanan ilaçlarda ve hem de birden fazla bitki karışımından hazırlanan ilaçlarda geçerlidir. Bitkisel ilaçların felsefesinde, ekstraktın içerisinde bulunan ve çok sayıda aktiviteye sahip olan bileşenler büyük önem taşımaktadır ve bilinmesi gereklidir (Williamson, 2001).

2.2 Modern Bakış Açıları

Tarih boyunca çok sayıda farklı kültürlere ait insanların, bitkileri tıbbi amaçla kullandıklarının belgesi bulunmaktadır. Kuzey Amerika kıtasında, yerli Amerikalılar çeşitli bitkilerin antifungal, bakterisidal, larva öldürücü ve mollusisidal (yumuşakça öldürücü kimyasal) özelliklerinden yararlanmışlardır. Yerli Amerikalılar tarafından kayıtlara geçen raporlara göre, kullandıkları 19 bitki ekstraktlarının çeşitli biyoaktiviteleri belirlenmiştir. Biyoaktiviteleri belirlenmiş olan bitkiler *Actaea pachypoda*, *Actaea rubra*, *Apocynum androsaemifolium*, *Aralia hispida*, *Asarum canadense*, *Caulophyllum thalictroides*, *Gaultheria procumbens*, *Geocaulon lividum*, *Ledum groenlandicum*, *Pyrola elliptica*, *Sambucus canadensis*, *Scutellaria epilobifolia*, *Scutellaria lateriflora*, *Sorbus americana*'dır (Bergeron et al., 1996). Ayrıca günümüzde, benzer tedavi amaçlarıyla ticari değere sahip olan çok sayıda yerli bitki, yerli Amerikalılar tarafından kullanılmaktadır. Genel olarak satışa sunulan tıbbi bitkilerin en başında yer alan 10 bitkisel takviyeden yedisi Amerikalı yerliler tarafından tüketilmektedir. Bu bitkiler ginseng (*Panax quinquefolius*, *P. ginseng*, *Eleutherococcus senticosus*), sarımsak (*Allium sativum*), ekinezya (*Echinacea purpurea*, *E. angustifolia*, *E. pallida*), kalın sarı köklü düğünçiçeği (*Hydrastis canadensis*), sarı kantoron (*Hypericum perforatum*), akşam çiçeği (*Oenothera biennis*), ve yabanmersini (*Vaccinium macrocarpon*) türlerini kapsamaktadır (Bergeron et al., 1996; Borchers et al., 2000). Dünyanın çoğu yerinde, özellikle de

gelişmiş ülkelerde, tıbbi problemlerin tedavisinde halen geleneksel tıp veya geleneksel tıp ile modern (batı) tıbbın karışımından yararlanılmaktadır. Ancak geleneksel ve modern tıbbın karşılaştırma ve değerlendirmelerinde bu konu üzerine gerçekleştirilmiş olan araştırmalara göre bunların arasında olan interaksionlarda sınırlayıcı problemlerin olduğu belirlenmiştir. Modern tedavi yöntemleri ile ilgilenen araştırmacılar geleneksel veya bitkisel ilaçları kendi bilim alanlarında kullanmadıkları algılanmaktadır. Bunlara rağmen, modern metodolojistlerin, etkili ve yeni ilaçlar keşfedebilmeleri için, bitkisel ilaçlardan faydalanıp bunlardan ilham alarak paralel bir şekilde yol aldıkları görülmektedir. Daha önce geliştirilmiş olan ilaçlar üzerine yapıldığı gibi, araştırmacılar tıbbi sekonder metabolit kaynağı olan bitkilerden yeni komponentlerin izole edilmesine çaba göstermektedirler (Taylor et al., 2001).

2.3 Meryemana Dikeninin Kullanım Tarihçesi

Meryemana dikenini tarihsel olarak ilk başlarda, gıda kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu bitkinin hem yaprakları ve hem de meyveleri yenilebilir. Meryemana dikenini ve özellikle yaprakları zengin demir kaynağıdır ve dikenleri alındıktan sonra salata veya haşlanmış yeşillik şeklinde yenilebilmektedir. Tohumları ise kavrulmuş halde salata ve pirinç gibi yemeklerin çeşnisi olarak kullanılabilir. Ayrıca tohumların kavrulmuş hali demlenip ve kahve yerine içilebilmektedir (McKenna et al., 2002).

Meryemana dikeninin kullanım tarihçesi Yunan filozofları tarafından kayıtlara geçen kaynaklara dayanmaktadır. Theophrastus, (c.371-287 BCE) tarafından bu bitkiye Pternix adı verilmiştir (Ball and Kowdley, 2005). Büyük Pliny (23- 79 M.S.), meryemana dikeninin “safra taşımacılığına (carrying off bile)” iyi geldiğini kaydetmiştir (Flora et al., 1998). Dioscorides (40-90 M.S.)’ de Materia Medica isimli kitabında, meryemana dikeninin kullanım alanları ile ilgili açıklamalar yapmıştır ve bu bitkinin tohumlarının yılan sokması sonucu oluşan zehirlenmelerin tedavisinde kullanabildiğini ifade etmiştir (Ball and Kowdley, 2005; Flora et al., 1998). 16. yüzyılda, meryemana dikenini popüler olarak hepatobilyer hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Ball and Kowdley, 2005). İngiliz herbalist Nicholas Culpeper 1652 yılında, yazdığı “The English Physitian” başlıklı kitabında meryemana dikeninin karaciğer ve dalak tıkanma veya

blokajının açılmasına mükemmel yardımcı olması sebebiyle sarılık hastalığı tedavisinde iyi bir ilaç olduğunu açıklamıştır (Ball and Kowdley, 2005). Meryemana dikenini ilk Avrupalı göçmenler tarafından Amerika'ya taşınmıştır. Ayrıca 1800 yılların sonu ve 1900 yılların başında Amerikalı herbalist doktorlardan seçilmiş olan grup, meryemana dikenini karaciğer, dalak, böbrek ve adet düzensizliklerine karşı kullanmışlardır. Almanya'da 1960 yıllarında, meryemana dikenini üzerine yapılan bir araştırmada, yeni ilgi çekici sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada meryemana dikenini had ve müzmin karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılabilir olduğu belirlenmiş, bunun yanı sıra hepatoprotektif özelliğine sahip olması nedeniyle karaciğeri toksik hasarlara karşı koruyabildiği ispatlanmıştır (Ball and Kowdley, 2005).

2.4 *Silybum marianum* (L.) Gaertner'in Genel Özellikleri ve Sistematikteki Yeri

Silybum marianum (L.) Gaertner (Synonym: *Carduus marianus* L.) taksonomik klasifikasyonu aşağıda verildiği gibidir:

Âlem: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Order: Asterales

Family: Asteraceae

Tribe: Cardueae

Cins: *Silybum*

Tür: *S. marianum* (L.) Gaertner (McKenna et al., 2002)

Dünya çapında, *Silybum marianum* (L.) Gaetrn bitkisi farklı dillerde çeşitli isimler ile tanınmaktadır. Bu bitki türü İngilizcede, milk thistle adıyla tanımlanmasının yanı sıra holy thistle adıyla da bilinmektedir (Libster, 2002). Ayrıca Mary thistle, St. Mary's thistle, Marian thistle, Lady's thistle, snake milk, sow thistle ve wild artichoke isimleri ile de adlandırılmıştır (Leung and Foster, 1996; Das et al., 2008; Abenavoli et al., 2010 a ve b).

Dünyanın farklı ülke ve bölgelerinde ise bu bitki türü, çeşitli bölgesel isimlere sahip olmaktadır:

Türkçe: Meryemana dikenini, başkavkas, deve dikenini, eşek dikenini, gengel, kahve

otu, kangal, kenger, kenger dikenini, kocabaş, kocakavkas, nef, şeker dikenini, uslu kenger ve uslu kenker (Tuzlacı, 2011)

Farsça: Mary tiqal (Omidbaigi, 1997) ve khar Maryam (Ghahreman, 1999; Mozaffarian, 2003)

Arapça: Akub, shawk ed diman, shawk en nassara ve Hharshaf barri (Dini, 2002; Ryant, 2003 ve Hammouda et al., 2017)

Fransızca: Chardon- Marie, chardon argente ve artichaut sauvage (Hammouda et al., 2017)

Almanca: Mariendistel (Leung and Foster, 1996; Hammouda et al., 2017)

Çince: Shui Fei Ji (Murphy et al., 2017)

İspanyolca: Cardo mariano ve cardo lechero (Das et al., 2008).

Bölgesel olarak *Silybum*'un adlandırılmasında kullanılan genel isimler, bitkinin morfolojisi ve bu bitki ile ilgili olan eski efsaneden kaynak almıştır. Bu eski efsaneye göre Meryemana dikenini bitkisinin yapraklarında bulunan beyaz damarlar veya lekeler, bakire Meryem'in sütü bu bitki ile temas ettikten sonra meydana gelmiştir. Ayrıca tarihsel olarak, insanlar bu bitkiden galaktagog (süt arttırıcı) olarak yararlanmışlardır.

Silybum cinsinde iki tür yer almaktadır, mor renkli çiçeklere sahip olan *S. marianum* ve beyaz çiçekleri olan *S. eburneum* coss.et Durieux. Her iki türde de hepatoprotektant flavonolignanlar üretilmektedir (McKenna et al., 2002). Alman araştırmacılar tarafından yapılan bir genetik çalışmasının sonucuna göre, *S. eburneum* coss.et Durieux, *S. marianum*'un bir varyetesi olduğunu ispatlamışlardır ve *S. eburneum* coss.et Durieux'ın bir tür olduğunu red etmişlerdir (Hetz et al., 1995).

S. marianum L. 34 kromozomlu ve diploid bir bitkidir. Bu kromozomlarda beşi “metacentric”, “sub- metacentric” ve “acro-centric” çeşitlerindendir (Kazmierczak and Seidler-Łoz, 1997; Sarrami et al., 2012).

Meryemana dikeninde genetik ıslahı sadece bitki davranışları ve yabani popülasyonlar arasında görünen farklılıkların net bir şekilde anlaşılması sayesinde gerçekleşebilir (Gresta et al., 2007; Karkanis et al., 2011).

Önceki çalışmalara göre, doğal ortamlarından toplanmış olan meryemana dikenini tohumlarını, tarla koşullarında yetiştirilmiş olan bitkilerin tohumlarıyla silymarin bileşenleri açısından kıyasladıklarında, silybin oranı daha düşük olmasına rağmen silychristin, silydianin ve isosilybinin gibi diğer bileşenlerin

oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Radjabian et al., 2008; Ghavami and Ramin, 2008). Meryemana dikeninde yapraklar ve çiçeklerde bulunan odunsu ve uçlu dikenler nedeniyle bu bitkinin üzerine yapılan ıslah çalışmalarının sayısı çok azdır (Gabay et al., 1994).

Almanya gibi bazı ülkelerde, meryemana dikeninin çok az sayıda varyetesi üzerine ıslah çalışmaları yapılmıştır ve 1980 yıllarının başında “Silib” adlı çeşidin ıslahını yapmışlardır (Carrubba and Torre, 2003). Sonraki yıllarda 1990 yılında ise “Silma” adlı çeşit Polonyalı ıslahçılar tarafından ıslah edilip ve tescilli bir çeşit olarak tanınmıştır (Andrzejewska et al., 2011).

Ram et al. (2005) meryemana dikeninin 15 ekotipinde morfolojik ve silymarin miktarını inceleyerek genetik farklılıklarını değerlendirmişlerdir ve bu araştırmanın sonucu olarak ekotipler arasında silymarin konsantrasyonu açısından farklılık olduğunu belirlemişlerdir (Ram et al., 2005).

Hetz et al. (1995), meryemana dikenini ağırlıklı olarak kendine döllen bir bitki olduğunu ve yabancı döllenme oranı %2 olduğunu saptamışlardır (Hetz et al., 1995).

Meryemana dikenini iklime bağlı olarak bir veya iki yıllık bir bitkidir. Yapraklar büyük ve tipik olarak 10 cm genişliğinde ve 30-40 cm uzunluğundadır. Yapraklar obovat, kubbe tabanlı ve dalgalıdır. Ayrıca kenarları dikenlidir. Bu bitkinin yaprakları tipik olarak koyu ve parlak yeşil ve beyaz damarlar ve lekeler ile tanınmaktadır, dikenlerin uzunluğu 1-3 cm olup hem yapraklar hem de çiçekler de bulunmaktadır. Meryemana dikenini vejetatif dönemini rozet halinde sürdürüp, genişliği 0.75-2 metreye ulaşabilmektedir. Bu bitkinin çiçekleri ise generatif dönemde boyları 1 m olan sapların ucunda meydana gelmektedir. Buna rağmen doğa koşullarına bağlı olarak bitki boyu bir metreden daha yükseklerle ulaşabilmektedir. Çiçeklerinin rengi açık mor ile kırmızımsı eflatun arasında değişmektedir ve çiçek çapı ise 2.5-6 cm arasındadır. Bitkide çiçek sayısı büyük oranda değişiklik gösterip, ortalama olarak 9-50 adet arasındadır. Uzunluğu 0.5-0.8 mm olan meryemana dikenini tohumları 1-2 cm boyunda olan papuslar yardımıyla rüzgar esintisi ile yakın mesafede etrafa dağılabilmektedirler. Çiçekler 100 adet civarında olgun tohum üretebilmektedirler (Bean, 1985; Morazzoni and Bombardelli, 1995). Meryemana dikenini doğa koşullarında ortalama 55 adet olgun çiçek üretim potansiyeline sahiptir ve bu her bitkinin yaklaşık 6350 adet tohum üretebileceğini göstermektedir (Dodd, 1989).

2.5 Ekolojik İstekleri ve Kontrolü

Meryemana dikenini farklı iklim koşullarına adaptasyon sağlayan ve olumsuz koşullara dayanıklı bitkidir. Geniş adaptasyon yeteneğine sahip olması nedeni ile (Cwalina-Ambroziak et al., 2012) kuzey iklimlerden, güney ve kurak iklimlere sahip olan bölgelere kadar yetiştirilebilmektedir (Wallace et al., 2008).

Meryemana dikenini Akdeniz bölgesinin yerli bitkisi olmasının yanı sıra, geniş kapsamda tüm Avrupa'da da yayılış göstermektedir. Literatürde yer alan açıklamalara göre, Meryemana dikenini sinantropik olarak veya insanların ikamet ettiği yerlerde yetişmektedir (Danin and Yom-Tov, 1990). Boş araziler, yol kenarları ve kültüre alınmış olan araziler meryemana dikeninin bulunması için uygun yerler oldukları bilinmektedir. Genelde rakımı 700-1100 m olan yerlerde yetişen Meryemana dikenini, ayrıca deniz kıyıları ile dağ kemerlerinin arasında olan arazilerde de yayılış göstermektedir (Morazzoni and Bombardelli, 1995; McKenna et al., 2002). İsrail bilim adamları tarafından belgeselleşmiş olan araştırmaya göre, meryemana dikenini tohumları karıncalar ile dağılmaktadır ve bitki yoğun bir şekilde karınca yuvaları etrafında yayılış göstermektedir. Hasatçı karıncalar (Harvester- ant) tohumları kendi yuvalarına taşıyıp, larvaları, tohumların yağlı kısımları ile (elaiosome) beslenmekle, tohumların geriye kalan kısımları besin madde açısından zengin olan karınca yuvalarının boş alanlarında kalmaktadır. Besin maddesi açısından zengin olan ortam, tohumların çimlenmesini teşvik etmekte ve bu bitkinin tohumlarına sonradan çimlenme gücünü kazandırmaktadır (Danin and Yom-Tov, 1990; Gabay et al., 1994).

Meryemana dikenini tohumları kolay çimlenme ve rüzgarla dağılış göstermesinden dolayı Avrupa'nın bazı bölgeleri, Avustralya ve Amerika'da invaziv (hızlı bir şekilde gelişerek etrafında bulunan bitkilerin büyümesini engelleyen) bir bitki olarak tanınmaktadır (Austin et al., 1988). Önceki araştırmaların sonucuna göre meryemana dikenini farklı toprak çeşitlerinde yetiştirilebilir ve yüksek verimler de elde edilebildiği saptanmıştır (Morazzoni and Bombardelli, 1995; Carrier et al., 2003; Andrzejewska et al., 2011). Meryemana dikenini genelde yol kenarları ve tarıma terk edilmiş arazilerde yayılış gösterdiği dikkat çekmektedir (Montemurro et al., 2007). Çoğu ülkede ise diğer zirai ürünler ile su ve besin maddelerini absorbe etmesinde rekabette olduğu için zararlı bir bitki olarak tanınmaktadır (Abenavoli et al., 2010 a). Ayrıca bu bitki manda

çiftlikleri ve kanatlı kümes hayvanlarının atıklarını biriktirilen, nitrojen açısından zengin olan yerlerin yanı sıra boş tutulan zirai arazilerde de kolaylıkla çoğalabilmektedir (Morazzoni and Bombardelli, 1995). Meryemana dikenini tohumlarında bulunan silymarin oranı varyete, ekotip ve iklim koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ancak en yüksek silybin oranı subtropikal bölgelerde yetiştirilen bitkilerden elde edildiği saptanmıştır (Morazzoni and Bombardelli, 1995; Ghahraman, 1999). Meryemana dikenini gövde ve yapraklarında nitrat biriktirebildiği için, özellikle bitkide erken solma görüldüğünde çiftlik hayvanları için öldürücü olabilmektedir (Khan et al., 2009). Çiftlik hayvanlarının yetiştiriciliğinde bitkinin hızlı yayılma özelliği, bir problem olarak bilinmektedir. Meryemana dikeninin kalın ve dik gövdesi hayvanları mera dışında tutabilmesinin yanısıra suyun erişimini de engelliyebilmektedir (Dingwall et al., 1950; Auld and Medd, 1987). Bu bölgelerde, bitkiyi kontrol etme yöntemleri uygulanması gerekmektedir. Bu kontrol yöntemlerinden, mera otları arasında rekabet, otlama yönetimi, imha etmek, toprak gübreleme yönetimi, kimyasal ve biyolojik kontroller gibi yöntemler araştırılmıştır (Dodd, 1989; Sindel, 1991; Souissi et al., 2005; Zheljazkov et al., 2006).

Morazzoni and Bombardelli (1995), subtropikal ve daha ılımlı bölgelerden elde edilen meryemana dikenini tohumları üzerine yaptıkları araştırmalar sonucuna göre, silymarinin asıl bileşeni olan silybin'in en yüksek miktarı subtropikal bölgelere ait olan tohumlardan elde edilmiştir ve bu farklılığın nedeni olarak yüksek sıcaklığın silybin'in birikimini arttırdığını ifade etmişlerdir (Morazzoni and Bombardelli, 1995; Andrzejewska et al., 2011).

2.6 Yetiştirme Tekniği ile İlgili Çalışmalar

Meryemana dikeninin yaygın olarak çoğalması tohumlarla yapılmaktadır. Tohumların çimlenmesi için ışığın olması gerektiği ispatlanmıştır. Tohumlar kolaylıkla çimlenebilir ve bazen rutubette çimlenmesi daha kolay olabilmektedir. Bu bitkinin çimlenmesi üzerine yapılan araştırmalar sonucuna dayanarak, tohumların olgunlaştıktan sonra 3-6 ay süren bir dormansi periyotları olduğu belirlenmiştir (Singh et al., 1982). Meryemana dikeninin normal büyüme ve gelişme mevsimi ilkbaharın başlangıcından yaz aylarına kadar olduğu belirlenmiş ve çiçeklerin olgunlaşması Haziran ve Temmuz aylarında gerçekleşmektedir. Bu

bitkinin fotoperyodik bir bitki olduğuna istinat edilen bir literatür bulunmamasına rağmen bu bitki iki yıllık bitki davranışı gösterebilmektedir (Carrier et al., 2003). Das et al, (2008), bitki iklim koşullarına bağlı olarak bir veya iki yıllık, otsu ve kışlık bir bitkidir, tohumların çimlenmesi ilk ve sonbaharda gerçekleşmektedir. Meryemana dikenini öncelikli olarak tarla koşullarında üretilmektedir ve genellikle tarla koşullarında asıl veya önemli böcek ve hastalık problemleri olmadığı dikkate alınmalıdır (Andrzejewska et al., 2006). Önceki çalışmalara göre, meryemana dikeninin tohumlarının çimlenmesi ışık ve sıcak ile etkileşimde olduğu saptanmıştır (Montemurro et al., 2007). Yeni hasat edilmiş olan tohumların sonradan olgunlaşma (after- ripening) sürecine ihtiyaç duyduğu saptanmıştır. Düşük sıcaklıklarda yüksek sıcaklıklara göre daha iyi çimlendikleri belirlenmiştir. Ayrıca tohumlar canlı kamasını dokuz ve üzeri yıl koruyabilmektedirler (Qavami et al, 2013). Young et al., (1978) meryemana dikenini tohumlarının çimlenmesi üzerine yaptıkları araştırma sonucuna göre, tohumlar daha yüksek sıcaklıklarda inkübe edildiklerinde daha uzun sonradan olgunlaşma (after- ripening) sürecine ihtiyaç duyduklarını saptamışlardır. Mel'ntov (1983), araştırmasına göre, meryemana dikenini tohumlarının minimum ve maksimum çimlenmesi sırayla 10 ve 35°C'da gerçekleşmiştir ve optimum çimlenme ise 20- 25°C'da saptanmıştır (Mel'ntov, 1983). Ghavami ve Ramin (2007)'nin, yürüttüğü araştırmaya göre, çimlenme yüzdesi 15°C'de, 25 ve 35°C'ye göre daha yüksek bulunmuştur (Ghavami and Ramin, 2007).

Tohumlar çimlenip ve fideler istikrarlı olduktan sonra, kış boyunca gelişmesini rozet halinde ve taban yapraklarının sayısını arttırarak sürdürür ve ardından kışın sonları ve ilkbaharın başlarında, düşük sıcaklık etkisi ile duyarlılık duyduktan sonra, generatif dönemi başlar. Çiçekler Nisan ve Mayıs aylarında açar ve meyveler ise Haziran ve Temmuz aylarında oluşur. Bu bitkinin yetiştirme süreci 125- 140 gündür ve bu süreçten 15- 20 günü tohum çimlenme ve fide gelişme süreci, 45- 60 günü ise vejetatif (rozet ve dallanma) süreç olup devamında generatif dönem başlayıp meyveler yetiştir ve bitki kurur (Das et al., 2008). Çiçeklenmeden kapitulum oluşumuna kadar olan süre normal şartlar altında beş gün sürer ve ardından tohumların olgunlaşması 17 gün sonra başlar. Her bir bitkinin ortalama 55 adet kapitulum üretimi vardır (Dodd, 1989) ve ana kapitulumun ürettiği tohum sayısı ise 100- 190 adettir (Carrier et al., 2002). Carrier et al., (2002) araştırmalarında, flavonolignanların oranının çiçeklenme

zamanı ile bağlantılı olduğunu saptamışlardır ve daha geç açan çiçeklerin meyvelerinde flavonolignan oranının en yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Carrier et al., 2002).

Meryemana dikeninin tıbbi kullanım amacı ile yetiştiriciliğinde, tohum verimi ve tohumlarda flavonolignan oranı büyük önem taşımaktadır ve tohumlar ticari olarak tıbbi ilaç üretiminde kullanılmaktadır. Önceden söylendiği gibi *S. marianum* türünde her bitki çok sayıda çiçek üretebilmektedir. Arjantin’de 2002 yılında yapılan bir araştırmada, meryemana dikeninde tohum üretimini etkileyen bazı yöntemler açıklanmıştır. Bu araştırmanın sonucuna göre bitkide tohum sayısı bitkide çiçek sayısından etkilenmektedir. Bitki başına tohum ağırlığı, bitkide çiçek sayısı, çiçekte tohum sayısı ve tohumların kendi ağırlıklarından etkilenmektedir. Bu araştırmanın diğer sonuçlarından, çiçekte tohum sayısı ile çiçek çapı arasında pozitif korelasyon ve bitkide çiçek sayısı ile negative korelasyon olduğu ispatlanmıştır (Gabucci et al., 2002).

Pook (1983), kış döneminde ve sera koşullarında, gölgenin meryemana dikeninin büyüme ve gelişmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda, gölgenin artmasının hem büyüme ve hem de büyüme oranına negatif etkisi olduğu saptanmıştır. Gölgenin artışı her zaman yaprak gelişimini ve büyüme oranını hızla düşürmesine rağmen, gölgenin artışıyla birlikte birim alanındaki güneş ışığı yoğunluğu %20’si altına düşmediği takdirde bitki morfolojisi üzerine çok az etkisi olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan bitkilerin gölgelenmeye karşı büyük telorans gösterdikleri tespit edilmiştir.

Tüm tıbbi bitkilerin yetiştirme tekniklerinde ekim tarihi, gübreleme ve sulama önemli faktörler olduğu gibi meryemana dikenini yetiştiriciliğinde de önem taşımaktadır. Bu bitkinin yetiştiriciliğinde olan asıl amaç, verimin arttırılmasının yanı sıra silymarin oranını da arttırmaktır (Qavami et al., 2013). Omer et al., (1995), araştırmalarında, meryemana dikeninin verim ve silymarin oranının nitrojen, özellikle potasyum ve bitkiler arasındaki mesafenin etkisi altında olduğunu belirlemişlerdir (Omer et al., 1995).

Diğer araştırmalar, farklı zirai koşulların meryemana dikeninin bioaktif bileşenlerinin (silymarin) miktarı üzerine etkileri olabildiğini göstermektedirler. Hammouda et al. (1994), yaptıkları araştırmanın sonuçları, silymarin oranı ve kalitesinin suya ulaşılabilirlik ve nitrojen miktarından etkilenebildiğini göstermiştir. En yüksek silymarin oranı (%6.31) %60 tarla kapasitesinde yetişen

bitkilerden elde edilmiştir. Ayrıca en yüksek silychristin, silybin ve isosilybin oranları da aynı tarla kapasitesinde saptanmıştır. Bu araştırmada, ulaşılabilen suyun miktarı düştükçe silymarin oranı da düşmektedir. Ayrıca %75 ve %40'lık tarla kapasitesi koşulları altında yetişen bitkilerin silymarin oranı doğal ortamda yetişen bitkilerden elde edilen silymarin oranıyla benzer olduğu belirlenmiştir (sırayla % 45.7, % 45.7 ve % 45.6). En yüksek silymarin oranı, ise 100 ve 150 kg/feddan gübre uygulamasında (1 feddan = 0.42 ha) elde edilmiştir (sırayla % 5.22 ve % 5.28).

Andrzejewska and Sadowska (2008), toprak gübrelemesi, meryemana dikeninde verim, silymarin ve doymamış yağ asitlerinin oranını pozitif bir şekilde etkilediğini saptamışlardır. Bunlara rağmen, kimyasal gübrelerden zengin olan (özellikle azot) topraklar bitkiyi ters ve uyumsuz bir şekilde etkilemektedir (Carrubba and Torre, 2003; Purohit et al., 1997).

Omidbaigi and Nobakht (2001) yaptıkları araştırmada, azot gübrelemesinin büyüme parametrelerini anlamlı ve pozitif şekilde etkilediğini, bununla birlikte meyvelerde (tohum) silymarin ve silybin oranlarının negatif şekilde etkilendiğini belirlemişlerdir. Yağmurlu bölgelerde ise bitkilerde yetiştirme dönemi boyunca kök bölgesinde yıkanma olayı devamlı gerçekleşmekte, bu bakımdan sürekli azotlu gübreleme uygulanabilmektedir (Karkanis et al., 2011).

Meryemana dikenini rutubet koşullarından yüksek derecede etkilenmektedir. Suyun fazla veya eksik olması silymarin birikimini engellemektedir ve en yüksek silymarin seviyesi % 60 tarla kapasitesinde elde edilmektedir (Andrzejewska and Sadowska, 2008).

Hassan et al. (1988) yürüttükleri araştırmada, sulama ve azotlu gübreleme (360 kg/ha) uygulamalarının vejetatif aksamın artmasını ve bitkilerin en yüksek çiçek sayısına ulaşmasını sağlamasına rağmen, en yüksek verimin orta seviye sulama (% 60 tarla kapasitesi) ve uygun seviye azot gübrelemesinden elde edildiğini göstermişlerdir.

Meryemana dikeninde yan dalların sayısı bitki sıklığına ve iklim koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Düşük bitki sıklıklarında (≤ 10 bitki/ m²) 10- 16 adet yan dal oluşmaktadır. Ayrıca silymarin oranı da bitki sıklığından etkilenmektedir. Sıra arası mesafesi 25 cm olan bitkiler 50 cm olan bitkilere göre daha yüksek verime sahip olurken, yağ ve silymarin oranında düşüş olduğu saptanmıştır. Yüksek sıcaklıklarda geç ekimlerde, bitkiler daha kısa sürede

generatif döneme girdikleri için verimde bir düşüş olmasına rağmen silymarin oranında artış olduğu belirlenmiştir (Omer et al., 1995; Andrzejewska and Skinder, 2006).

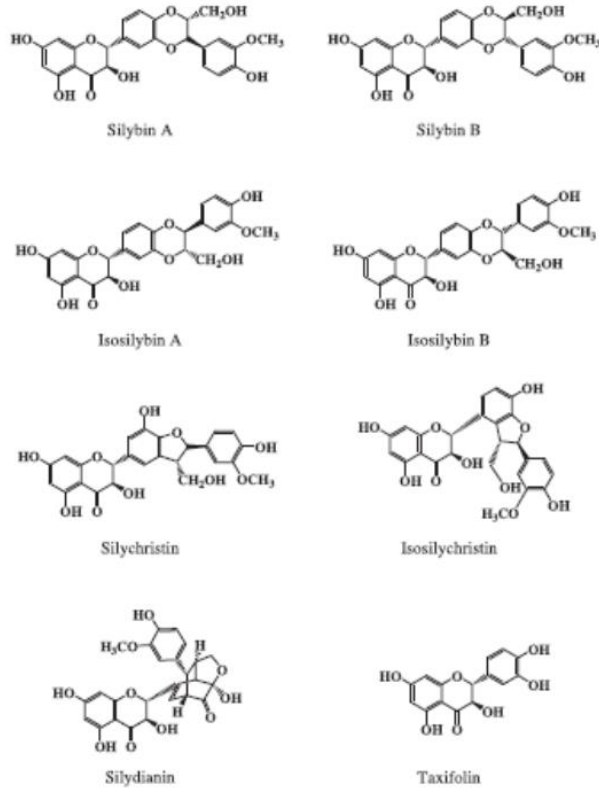
Warren (2003), meryemana dikenini üzerinde, sera koşullarında yürüttüğü farklı azot konsantrasyonları uygulamasının sonuçlarına göre, farklı azot konsantrasyonu (47.1 mg/L, 100.6 mg/L, and 151.8 mg/L) altında olan meryemana dikenini bitkilerinin vejetatif verimleri etkilenmektedir. En düşük azot konsantrasyonu altında olan bitkilerden diğer iki azot konsantrasyon uygulamaları altında olan bitkilere göre daha düşük vejetatif verim elde edilmiştir. Ayrıca tohum verimi azotun alınabilirliğinden etkilenmektedir. En yüksek azot konsantrasyonunda en fazla tohum verimi (104.7 g/bitki) elde edilmiştir. Bunun yanı sıra diğer iki azot konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır ve tohum verimi ortalama değerleri her iki azot seviyeleri uygulamalarında 42.1 g/bitki olarak elde edilmiştir. Bu araştırmada ayrıca, azot konsantrasyonlarının hiçbirisi silymarin oranında anlamlı farklılık yaratmamıştır. Ayrıca azot konsantrasyonunun düşüşüyle silymarinin tüm bileşenlerinde az yükseliş olduğu saptanmıştır.

Ayrıca Meryemana dikeninde silymarin oranı sıra arası mesafeden etkilenmektedir. Tohum sıklığı ile ilgili yapılan bir araştırmada, tohum verim ve kalitesi üzerine iki farklı sıra arası mesafesinin (25 ve 50 cm) etkisi incelenmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, daha az sıra arası mesafesi koşullarında yetiştirilmiş olan bitkiler, 50 cm sıra arası mesafesinde ekilmiş olan bitkilere göre daha yüksek tohum verimine sahip olmuşlardır. Bununla birlikte bu bitkilerde yağ ve silymarin oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür (Omer et al., 1993).

2.7 *Silybum* 'un Tıbbi Kullanımı Üzerine Araştırmalar

Meryemana dikenini tohumlarında, farmakolojik aktiviteye sahip olan bileşenlerin toplamı silymarin adıyla tanınmaktadır. Silymarin yapısında bulunan bileşenler, silybin (% 50- 60), isosilybinin (% 5), silychristin (% 20), silydianin (%10), taksofolin ve benzer bileşenler (% 5) gibi flavonolignan komponentlerinden meydana gelmektedir (Şekil 2.1) (Radjabian et al., 2008). Ayrıca silymarin içerisinde apigenin, silybonol, dehydrosilybin, deoxysilychristin,

deoxysilydianin, silyandrin, silybinome, silyhermin ve neo silyhermin gibi başka bileşenlerde bulunmaktadır (Libster, 2002; Kvasnicka et al., 2003; Abenavoli et al., 2010). Çok sayıda araştırma sonucuna göre, meryemana dikenini tohumları nispeten yüksek oranda sabit yağ (%20-31) içermektedirler. Meryemana dikenini yağı içerisinde linoleik asit, oleik asit, linolenik asit, palmitik asit ve stearik asit gibi yağ asitleri bulunmaktadır (Hadolin et al., 2001; Fathi-Achachlouei and Azadmard- Damirchi, 2009; Qavami et al., 2013). Meryemana dikeninin biyolojik aktiviteleri açısından en önemli bileşeni olan silybin önemli farmakolojik özelliklere de sahiptir. Silybin asırlar boyunca karaciğer düzensizlikleri tedavisinde kullanılmıştır (Abenavoli et al., 2010; Hadolin et al., 2001). Meryemana dikenini çeşitli karakterlerinden dolayı farklı tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Birçok araştırma sonucuna göre, meryemana dikeninden elde edilen silymarin ekstraktı, karaciğer hücrelerini bozulmadan korunmasına, temizlenmesine yardımcı olmakta ve detoksifikasyonunun yanı sıra hasar görmüş karaciğer hücrelerinin yenilenmesinde de katkısı olduğu kabul edilmektedir (Davis-Searles et al., 2005; Abenavoli et al., 2010).



Şekil 2.1. Meryemana dikenini tohumlarında bulunan silymarin bileşenlerin kimyasal yapıları.

S. marianum L. de bulunan bileşenler karaciğerde ortaya çıkan problemleri engelliyeabilmektedir ve bunun yanı sıra had karaciğer zehirlenmeleri ve hastalıklarında kullanılabilir. Ayrıca meryemana dikeninin kanser tedavisi, kolesterol kontrolü, sinir sistemi sağlığını yükseltme, tip iki (II type) diyabetik hastaların tedavisinde, inflamatuvar, antioksidan, toksin ablukası, protein sentezini arttırması ve anti- fibrotik etkileri olduğu çok sayıda araştırmada kaydedilmiştir. Bu araştırmaların bazısında silymarin kompleksi ve bazısında silybin bileşeni kullanılmıştır.

2.7.1 Meryemana dikeni ve karaciğer

Karaciğerin asıl fonksiyonları üç gruba ayrılabilir; karaciğer bedenin homeostazisinde önemli olan maddelerin ayarlanması, sentezlenmesi ve salgılama görevini yerine getirmektedir. Ayrıca glikojen, vitaminler ve mineraller gibi besin maddeleri karaciğerde depolanmaktadır. Bunların yanı sıra, atık ürünler, ilaçlar ve vücudun ürettiği toksin maddeleri paklamak, dönüştürmek ve temizlemek karaciğerin diğer görevlerindendir. Ayrıca karaciğer, orta dereceli hasarlar hariç, kayıp dokusunu rejenere (yenileme) etme kabiliyetine sahiptir ve bu fonksiyonu sürdürebilmektedir. Bu fonksiyonlara sahip olmasına rağmen hasar, hastalık ve alınan (emilen) toksin maddeler karaciğerin normal aktivitelerini yerine getirme kabiliyetini büyük oranda düşürmektedir. Karaciğerin kronik problemleri alkol ve asetaminofen gibi yaygın maddelerin sürekli tüketmesinden meydana gelmesinin yanı sıra had sıkıntıları ise ağız yoluyla mantar zehirlenmelerinden ortaya çıkmaktadır. Karaciğerde hücre hasarları ve bozuklukları bu organın çok sayıda fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (Earnest, 2005).

Literatürde bildirildiğine göre *Silybum*'da olan tıbbi flavonolignanların dört farklı yolla karaciğere yararlı etkileri vardır; birincisi bu flavonolignanlar, antioksidan, anti inflamatör ve süpürücü (scavenger) özelliklerinin yanı sıra hücreler arasında olan glutatyonu ayarlayıcı fonksiyonunu yerine getirmektedirler. Bu özellik, karaciğer dışında diğer faydalarının açıklamasında yardımcı olur. İkincisi, flavonolignanlar, hücre membran stabilizatörü ve membran geçirgenliği ayarlayıcısı olarak karaciğeri içerisindeki kimyasalların hepatotoksik etkilerinden koruyabilmektedir. Üçüncüsü, bu bileşenlerin RNA sentezini teşvik etme

kabiliyeti olmasından dolayı karaciğer rejenerasyonunda yardımcı olmaktadır. Sonuncusu, bu komponentler, stellat hepatositlerin myofibroblastlara dönüşümünü engellemektedir ki bu proseslerin gerçekleşmesi karaciğer sirozuna yol açmaktadır (Fraschini et al., 2002).

Son yıllarda literatürlere geçen değerlendirmeler, meryemana dikeninin karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanımını özetlemektedir. Jacobs et al., (2002), meta- analiz yöntemi ile karaciğer hastalıkları tedavisi üzerine sistematik bir değerlendirmeyi yayımlamışlardır. Bu grup 1999 yılına kadar meryemana dikenini üzerine olan klinik araştırmaları inceleyip, karşılaştırmışlardır. Ayrıca Ball and Kowdley, 2005 yılında, meryemana dikenini/ silymarin ile yapılan klinik araştırmada, viral hepatit ve alkolik karaciğer hastalıkları üzerine yürütülmüş olan çalışmada iki değerlendirmeyi kıyaslamışlardır. Tüm değerlendirmelerde, kullanılan dozaj ve bitki kaynağı farklılığının yanı sıra deneme deseni eksikliğinden dolayı çelişkili sonuçlar yayımlanmıştır. Araştırmada karaciğer hastalığı tedavisinde kullanılan meryemana dikeninin yararlı veya tehlikeli olduğuyla ilgili kesin bir açıklama bulunmamaktadır.

Rainone (2005), yaptığı bir derlemede özet olarak, meryemana dikeninin karaciğer hastalıkları tedavisinde pozitif ve anlamlı etkisi olduğu ifadesinde bulunmuştur. Bir tesadüfi plasebo kontrollü çalışmada, araştırmacılar akut ve az süregelen karaciğer hastalıkları olan 106 hasta üzerine araştırmalarını yürütmüşlerdir. Bu hastalarda karaciğer hastalığı seviyesi yükselmiş transaminaz serumunun miktarı ile belirlenmiştir. Araştırmanın dördüncü haftası sonunda, silymarin uygulaması grubu altında yer alan ve araştırmaları tamamlanan 97 hastanın transaminaz serumu seviyelerinde anlamlı bir düşüş olduğunu saptanmıştır (Salmi and Sarna, 1982).

Ferenci et al. (1989), yaptıkları klinik araştırmada, Legalon adlı meryemana dikenini (% 70- 80 silymarin içeren standart), standardının etkisini incelemişlerdir. Bu araştırmada, Legalon ile tedavi altına alınan veya plasebo olarak 170 hasta (46'sı alkolizim) 24- 46 ay inceleme altına alınmışlardır. Araştırmayı tamamlayan 146 hastada, Legalon tedavisi altında olanlarda ölüm oranı daha düşük olduğu saptanmıştır. En büyük yarar ise, alkolden kaynaklanan karaciğer sirozu hastalarında görülmüştür. Ayrıca bu araştırmaya karaciğer siroz şiddeti hafif olan hastalar dâhil edilmemiştir.

1989 yılında, çift- kör yöntemi ile yürütülen bir çalışmada alkolden

kaynaklanan karaciğer sirozu olan 36 hasta altı ay boyunca Legalon ilacıyla tedavi altına alınmışlardır. Araştırmanın sonucunda hastalarda bilirubin, asparatate transminase ve alanine transminase serumu seviyelerinin normal düzeye geldiği gözlenmiştir. Bilimsel olarak karaciğer enzimlerinin seviyesi karaciğer sağlığının bir göstergesi olarak kullanılabilir. Ayrıca Legalon tedavisi altında olan hastalarda histolojik açıdan da iyileşme görülmüştür. Bu etkiler plasebo grubunda yer alan hastalarda saptanmamıştır (Feher et al., 1989).

1998 yılında, aktif kronik hepatiti olan 20 hastayı tesadüfi şekilde silybin tedavisi veya plasebo olarak inceleme altına alınmışlardır. Meryemana dikenini (silybin) ile tedavi altına alınmış olan grup plasebo grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde daha az transminase, bilirubin ve γ -glutamyltranspeptidase seviyelerine sahip oldukları saptanmıştır. Bu çalışmada phosphatidylcholine ile çiftleşmiş (akuple) silybin kullanılmıştır ki bu çiftleşme bio yararlanmayı arttırmaktadır (Pares et al., 1998). Bu çiftleşme silipide veya Siliphos olarak bir “phytosome” meydana getirmektedir (Kidd and Head, 2005; Hoh et al., 2006). Phosphatidylcholine su ve yağ (lipit) ortamında çözölebilmektedir ve bu özellik bio yararlanmayı arttırmaktadır (Kidd and Head, 2005). Bu ürün asetonda çözölmüş olan silybin ve Phosphatidylcholine 1:1 molar oranı ile n-hexane ile karıştırılıp ve prosesin sonunda elde edilen çökeltini vakum koşullarında kurutması ile elde edilmektedir (Ball and Kowdley, 2005).

Deney hayvanları üzerine yapılan in vitro ve in vivo araştırmalar sonucunda silymarinin karaciğer hücrelerini toksinlere karşı muhafaza ettiği belirlenmiştir. Alkolik karaciğer hastalıklarında (ALD) silymarin hepatoprotektif etkilerini alnine aminotransferase (ALT) serumunun aktivitesinin azalması esnasında tümör nekroz faktör (TNF)’ün üretiminin azalmasıyla, yağ peroksidasyonunu engellemesinin yanı sıra hücreler içinde oranı azalmış olan glutatyonun da oranını arttırmakla ortaya koymaktadır (Ladas et al., 2010).

2.7.2 Meryemana dikenini ve kanser

Son yıllarda farklı kanser çeşitlerinin tedavisinde silymarin, silybin veya meryemana dikeninden elde edilen diğer ilaçların etkisini inceleyen araştırmaların sayısı artmaktadır. Prostat, kolon, cilt ve meme kanserleri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca angiogenesis ve serbest oksijen radikalleri (ROS) gibi

kanserojen faktörler üzerine silymarin bileşenlerinin etkisi araştırılmıştır. Bunların yanı sıra, bu bileşenlerin etkileri hücre dizileri, hayvan ve insan modelleri üzerine de araştırmalar yürütülmüştür.

Farelerde prostat kanseri hücreleri üzerine silymarin ve silybin'in antiproliferatif ve apoptik etkilerinin belirlenmesi için yapılan araştırmanın sonucunda, her iki bileşenin de antiproliferatif ve apoptik açıdan güçlü bir DNA sentezini inhibe eden madde gibi etkileri olduğu belirlenmiştir. Ayrıca her iki bileşen de tedavi süreci ve ilaç dozuna bağlı olarak düşük toksisite etkileri göstermişlerdir. Araştırmacılar bu bileşenlerin prostat kanserine karşı engelleyici ve iyileştirici potansiyelleri olduğu önerisinde bulunmuşlardır (Tyagi et al., 2002). Diğer bir araştırmanın sonucuna göre, silymarin ve silybin'in prostat kanserinin PC3 hücrelerinde, hücre döngüsünde üzerine engelleyici etkileri olduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmada, silybin ve silymarin (50- 100 µg/mL) hücre proliferasyonunu engellemekte, hücre ölümünü indüklemekte ve kullanım süreci ve doza bağlı olarak hücre döngüsünde G1 ve G2- M'i engellemişlerdir. Silymarin üzerine araştırma yapan araştırmacılar silybin'in asıl aktif bileşen olduğu ifadesinde bulunmuşlardır. Ayrıca silymarin karışımında olan diğer stereoizomerlerin de (isosilybin A ve B, silydianin, silychristin ve isosilychristin) yararlı bileşenler olduklarına dair açıklamalar yapmışlardır (Deep et al., 2006).

Vücutta tümörün büyümesi ile anjiyogenezin (kan damarlarının oluşumu) bağlantılı olduğu bilinmektedir. Yang et al. (2003), Lovo kolon kanseri hücreleri üzerinde silymarin ve silybin bileşenlerinin anti- anjiyogenik etkilerini talidomit ilaçlarla karşılaştırmışlardır. Bu araştırmanın sonucu olarak, silymarin ve silybin'in etkisi kolon kanseri hücreleri üzerine talidomit ilaçtan daha iyi olmadığı ve iki bileşenin de benzer etkiler meydana koydukları saptanmıştır. Ayrıca bu araştırmacılar silymarin ve silybin'in anti kanser oldukları ve özellikle de düşük toksisite göstermelerinden dolayı çok dikkat çekici oldukları ifadesinde bulunmuşlardır. Bir öncül çalışmada 2006 yılında, kalın bağırsak adenokarsinom kanseri olan ratlar, 7 gün boyunca ağız (oral) yoluyla 360, 720 veya 1440 mg günlük dozlarla inceleme altına alınmışlardır. Araştırmacılar çok sayıda silybin metabolitlerini belirleyip ve hastaların hem plasma ve hem dokularında aynı kökten türemiş olan silybin'in benzer seviyelerde bu bileşenin farmakolojik aktivitelerinin tanımlanmasında kullanmışlardır. Bunlara rağmen bu araştırmada kullanılan silybin dozları kanda antioksidan markörleri olarak apoptoz etkileri

olmadıkları saptanmıştır. Bu araştırmanın sonucunda, bu tedaviler güvenli bir tedavi olarak belirlenmişlerdir ve insan kalın bağırsak kanseri araştırmasının devamında bu bileşen değerli kemopreventatif ajanı olarak yararlı olduğu ifadesinde bulunmuşlardır (Hoh et al., 2006).

Silymarin ve bileşenleri UV radyasyon hasarları ve deri kanserine karşı etkili oldukları gösterilmiştir. Li et al., (2004), silybin'in UV radyasyonu ile insanda ortaya çıkan kara tümör (A375-S2 cells) hücrelerin apoptozu üzerine etkisi olduğunu belirlemişlerdir. Bu hücreler üzerine 12 saat boyunca 500 μ M silybin ile işlem yapılmıştır ve UV radyasyonu ile apoptozu başlanmış olan hücrelerde anlamlı şekilde engelleyici etkisi olduğu saptanmıştır. Svobodova et al., (2007), yaptıkları çalışmada, derinin epidermal HaCaT hat (line) hücrelerinde UV A radyasyonu ile başlatılmış hasarlar üzerine silymarin'in etkisini incelemişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda, silymarin konsantrasyonunun artmasıyla (0.7-34 mg/L) UV A'nın verdiği oksidatif stres hasarlarında düşüş gözlemlendiği saptanmıştır. Silymarin, inflamasyon, immunosüpresyon, erken yaşlanma ve fotokarsinogenez yollarıyla reaktif oksijen türevlerinin gelişmesini azaltmaktadır. Ayrıca UV A radyasyonuna maruz kalmadan ortaya çıkan DNA tek iplik kırılması ve caspase-3 aktivitesi silymarin uygulamasında anlamlı düşüş gösterdiği saptanmıştır.

Silymarin'in diğer fonksiyonlarından, karaciğer dokusunda anlamlı şekilde anti-inflamatuvar etkisi gösterdiğinin yanı sıra, leukotriene sentezi ve prostaglandinlerin oluşumunu engellediği gibi nötrofil migrasyon ve Kupffer hücrelerini de engellemektedir. Bunlara rağmen, silymarin aktivitesi ile ilgili moleküler esaslar bilinmemektedir ve silymarin'in inflamatuvar prosesi, cytoprotection ve karsinogenesi regüle eden NF- κ B faktörünün transkripsiyonunu engellemesi bir hipotez olarak ortaya koyulmaktadır (Fraschini et al., 2002; Polyak et al., 2007).

2.7.3 Meryemana dikenini ve neural etkileri

Meryemana dikeninden elde edilen flavonolignanların nöronlar üzerine olan etkileri araştırılmıştır ve bu bileşenlerin sinir sistemi üzerine yararlı etkiye sahip oldukları literatürlerde görülmektedir. Kittur et al., (2002), meryemana dikenini tohumlarından elde edilen ekstrakt PC-12 (pheochromocytoma)

hücrelerinde nörotik farklılaşmayı desteklediği, nörit ve sinir gelişimini yükselttiği ve nöronların daha uzun süre yaşamasına neden olduğu ifadesinde bulunmuşlardır. Ayrıca ratlarda, birincil hippocampal nöronlarda hücre ölümüne neden olan oksidatif stresleri engellemektedir (Kittur et al., 2002).

Silymarin'in beyin aminleri ve metabolitleri üzerine etkisini belirlemek için BALB/c farelerini kullanarak 2004 yılında bir araştırma yapılmıştır. Fareler beş gün boyunca 0, 10, 50 ve 250 mg/kg intraperitoneal yoluyla silymarin uygulaması altına alınmışlardır. Araştırmanın sonucunda, kortekste en yüksek serotonin, dopamin ve norepinefrin seviyeleri en yüksek silymarin dozuna maruz kalan grupta elde edilmiştir. Bu araştırma silymarinin çok azda olsa serotonerjik, dopaminerjik ve noradrenerjik etkilerine sahip olabildiğini göstermiştir (Osuchowski et al., 2004).

2.7.4 Meryemana diken ve tip II diyabet (Type II Diabetes)

Silymarin tip II diyabet tedavisinde etkilidir. Oksidatif stres pankreasta hem β -cell hasarı ve hem de anormal metaboliklere neden olabilmektedir ki bu hasarlar diyabetik olmaya veya diyabetik hastaların durumunun daha vahim olmasına neden olabilmektedir. Yapılan bir klinik araştırmada, dört ay boyunca çifte- kör yöntemini kullanarak 51 pankreatik tip II diyabetik hasta üzerine silymarin etkisi incelenmiştir. Birinci grupta normal tedavi altında olan hastalara tedavilerinin yanında günlük üç kez 200 mg silymarin uygulaması da yapılmıştır. Diğer grupta ise plasebo uygulaması yapılmıştır. Dört ay sonra araştırmanın sonunda, silymarin uygulaması altında olan grupta, glikolize hemoglobin seviyelerinde, açlık kan şekeri, toplam kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein, trigliserid, SGOT ve SGPT miktarlarında anlamlı bir düşüş olduğu saptanmıştır. Ayrıca silymarin grubunda anlamlı olmasa da hastalarda az miktarda kilo, sistolik ve diyastolik kan basıncında düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmanın sonucunda, araştırmacılar, tip II diyabetik hastalarda silymarin dozları glisemik profilinde yararlı etkileri olduğu ifadesinde bulunmuşlardır (Huseini et al., 2006). Bu araştırmanın sonucu, silymarin'in bir hipokolesterolaemik ilaç olarak özelliği ile ilgili ratlar üzerine yapılan yakın zamanlardaki çalışmaların sonuçlarıyla bağlantılı olarak, silymarin kolesterol absorpsiyonunda ve hipertrigliseridemik ratlarda oksidatif stres üzerine etkili olduğu saptanmıştır (Skottova and Krecman,

1998; Skottova et al., 2004; Sobolova et al., 2006).

2.7.5 Antioksidan özellikler

Meryemana dikeninin antioksidan özellikleri süperoksit anyon radikal ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikal ($OH^{\cdot}$) ve hipokloroz asit ($HOCl$) gibi oksidan veya ROS'lar ile uygun şekilde reaksiyona girme kabiliyeti üzerine araştırmalar ile belirlenmektedir (Ramasamy and Agarwal, 2008). Kiruthiga et al. (2007), yaptıkları araştırma sonucuna göre, silymarin uygulamalarında, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutation peroksidaz (GPx), glutation reduktaz (GR), glutation-s-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığının yanı sıra H_2O_2 'ya maruz kalan eritrositlerde, yağ asit peroksidasyonunun belirticisi olan malondialdehide (MDA) seviyesini düşürdüğünü saptamışlardır.

2.7.6 Anti- inflamatuvar aktivitesi

Silymarinin anti- inflamatuvar etkileri, hücre çekirdeğinde faktör- κB (NF- κB)'nin inhibe etmesi ile gerçekleşir. Bu faktör inflamasyon, hücre yaşam, farklılaşma ve büyüme ile ilgili olan genlerin ekspresyonunu ayarlamaktadır (Ramasamy and Agarwal, 2008).

2.7.7 Mantar zehirlenmeleri

Meryemana dikeninin çok dikkat çekici kullanım alanlarının birisi Amanita mantarı zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılmasıdır. Amanita mantarlarında çok güçlü hepatotoksik etkiye sahip olan amanitin ve phalloidin adlı iki bileşen bulunmaktadır. Mantar zehirlenmesinde 24 saat içerisinde silymarin kullanılırsa karaciğeri şiddetli hasarlardan (ve hatta ölüm) uzak tutabilmektedir (Luper, 1998).

2.7.8 Meryemana dikenini ve veterinerlikte kullanım alanları

Meryemana dikeninin veterinerlikte kullanımı ile ilgili bazı araştırmalar

bulunmaktadır. Yayımlanmış olan bir değerlendirmede, köpekler ve kedilerde olan hepatobilyer hastalıkların farmakolojik tedavilerinde bu bitki hepatoprotektör olarak kullanıldığında yan etkisi ve kontrendikasyonu olmadığı veya çok az olduğu belirlenmiştir (Sartor and Trepanier, 2003). Diğer bir araştırmada 2004 yılında, piliçlerde silymarin- fosfolipit kompleksinin aflatoksin B1 toksisitesinin azaltmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Aflatoksin B1 genelde hayvanların yemlerinde özellikle yer fıstığı ve tahıllardan hazırlanan yemlerde bulunan mykotoksindir (Tedesco et al., 2004a). Tedesco et al., (2004b), peripartum döneminde, silymarinin karaciğer yağlanması olan sağmal ineklere yararlı olduğu ifadesinde bulunmuşlardır. Diğer bir araştırmada ise meryemana dikenli silajı sığırlarda daha düşük trigliseridler ve karaciğer enzimleri seviyelerine sebep olduğunun saptanmasının yanı sıra sığırlarda doğum sonrası geçiş sürecinde bu bitkinin silajı kan serumunun enzimatik aktivitesine pozitif etkisi olduğu belirlenmiştir (Grabowicz et al., 2004).

2.8 Bazı Agro- Morfolojik Çalışmalar

Koláčková and Růžicková (2013), Çek Cumhuriyetinde, iki farklı lokasyonda (Citonice ve Olomouc), 15 farklı genetik kaynaklı meryemana dikenli popülasyonlarının üzerine yaptıkları araştırmanın sonuçlarına göre, popülasyonlar arasında bitki boyu, yan dal sayısı, çiçek sayısı, bitki başına tohum verimi ve bin dane ağırlığı ortalamaları değerlerinde anlamlı farklılık olduğunu saptamışlardır. Ayrıca aynı genetik kaynaklı olan bitkiler farklı lokasyonlarda yetiştiklerinde anlamlı farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Bu araştırmanın sonucunda, popülasyonların bitki boyu ortalama değeri 1. lokasyonda 30.88- 105.80 cm ve 2. lokasyonda ise 112.80- 173.00 cm aralığında değiştiği saptanmıştır. Popülasyonlar yan dal sayısı ortalama değerleri açısından incelendiklerinde, 1. lokasyonda 2.89- 23.80 adet ve 2. lokasyonda ise 9.20- 23.60 adet arasında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonların çiçek sayısı ortalama değerleri 1. lokasyonda 2.00- 13.90 adet ve 2. lokasyonda ise 3.80- 9.70 adet arasında değişmiştir. Bitki başına tohum verimi ortalama değerleri açısından ise birinci ve ikinci lokasyonda sırayla 1.11- 17.56 g ve 8.64- 31.50 g olduğunu belirlemişlerdir. Bindane ağırlığı ise popülasyonlarda 16.17- 24.53 g (1. lokasyon) ve 22.15- 28.04 g (2. lokasyon) olduğu saptanmıştır.

Koláčková et al., (2015), meryemana dikeninin 15 popülasyonunda büyüme dinamikleri ve morfolojik özellikleri üzerine yaptıkları üç yıllık (2010-2013) araştırmada, morfolojik özellik olarak bitki boyu ve bitkide olgunlaşma aşamasında gelişmiş olan çiçek sayısını inceleme altına almışlardır. Bu araştırmanın sonucuna göre, bitki boyu açısından popülasyonlar ve yıllar açısından anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitki boyu ve bitkide çiçek sayısı özellikleri arasında deneme yıllarında pozitif korelasyon olduğunu saptamışlardır. Deneme yıllarına tek tek bakıldığında, denemenin birinci yılı olarak 2010 yılında, popülasyonlar arasında bitki boyu ortalama değerleri 61- 121 cm arasında değişmiş ve bitki boyu ile bitkide çiçek sayısı arasında olan korelasyon 0.75 değerinde belirlenmiştir. Denemenin ikinci senesinde (2012) ise bitki boyları 71 ile 98 cm arasında belirlenmiş ve bu değerlerin bitkide çiçek sayısı ile korelasyonu 0.44 olduğu saptanmıştır. Denemenin üçüncü senesinde (2013), bitki boyu ortalama değerleri 126-173 cm arasında saptanmıştır. Ayrıca bitkide çiçek sayısı ile olan korelasyon 0.24 olarak bulunmuştur.

Gresta et al., (2007), yaptıkları araştırmada, Akdeniz iklimine sahip olan İtalya'nın güneyinde üç farklı bölgenin doğasında bulunan *Silybum marianum* L. popülasyonlarını denemeye tabi tutmuşlardır. Bu çalışmada, doğal ortamda deneme bireyi olarak 50 m² alan ve bu alanda homojen bir şekilde her m²'de üç bitki olacak şekilde bir alanı seçmişlerdir. Deneme amaçlı seçilen bitkilerde bitki boyu, birincil yan dal nodi boyu, birincil yan dal sayısı, ikincil yan dal sayısı, ana sap kalınlığı, birincil çiçek sayısı, ikincil çiçek sayısı, ana saptaki çiçek çapı, ikincil çiçek çapı, birincil çiçekte tohum sayısı, ikincil çiçekte tohum sayısı, bitki başına tohum sayısı, birincil çiçekte 1000 dane ağırlığı, ikincil çiçekte 1000 dane ağırlığı ve bitki başına verim gibi bazı agronomik ve morfolojik özellikler incelenmişlerdir. Araştırmanın sonucuna göre, lokasyonlar arasında incelenen özelliklerin bazısında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2.1). Ayrıca üç lokasyona ait olan bitkiler arasında çimlenme, sapa kalkma, çiçeklenme ve tohum olgunlaşma zamanlarında farklılık bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 2.1 Gresta et al., (2007), sonucuna göre, lokasyonlar arasında incelenen özellikler

Morfolojik Parametreler	Lokasyonlar		
	Birinci Lokasyon	İkinci Lokasyon	Üçüncü lokasyon
Bitki Boyu (cm)	121.8 ±15.1	134.5 ±12.4	133.3 ±13.2
Birincil Yan Dal Nodi boyu (cm)	26.7 ±4.9	26.3 ±4	25.8 ±4.8
Birincil Yan Dal Sayısı (adet)	7.3 ±1	7.4 ±0.5	6.8 ±0.8
İkincil Yan Dal Sayısı (adet)	4.2 ±1.2	5.1 ±1	5.7 ±1.9
Ana Sap Kalınlığı (Alt kısım) (mm)	19.4 ±2.2	19.1 ±2.7	18.7 ±2.6
Ana Sap Kalınlığı (Orta kısım) (mm)	15.2 ±1.9	14.3 ±1.4	14.5 ±2
Ana Sap Kalınlığı (Uç kısım) (mm)	3.8 ±0.7	4 ±0.8	4.4 ±0.5
Birincil Çiçek Sayısı (adet)	7.3 ±1	7.4 ±0.5	6.8 ±0.8
İkincil Çiçek Sayısı (adet)	4.2 ±1.2	5.1 ±1	5.7 ±1.9
Ana Saptaki Çiçek Çapı (uzunluk) (mm)	21.5 ±1.9	20.8 ±1.7	23 ±1.1
Ana Saptaki Çiçek Çapı (Transversal) (mm)	47.5 ±3.9	46.5 ±3.8	47.7 ±3.5
İkincil Çiçek Çapı (uzunluk) (mm)	23.6 ±2	22.8 ±1.4	24.2 ±0.6
İkincil Çiçek Çapı (Transversal) (mm)	31.1 ±2.1	30.1 ±3.6	32 ±1.8
Birincil Çiçekte Tohum Sayısı (adet)	89.2 ±8.78	86.8 ±17.1	87 ±11.3
İkincil Çiçekte Tohum Sayısı (adet)	58.4 ±7.82	55.3 ±6.74	59.4 ±5.6
Bitki Başına Tohum Sayısı (adet)	892.4 ±114.1	916.1 ±130.8	934.5 ±184.9
Birincil Çiçekte 1000 Dane Ağırlığı (g)	27.4 ±0.41	28.4 ±0.24	29 ±0.58
İkincil Çiçekte 1000 Dane Ağırlığı (g)	19.2 ±0.21	20 ±0.15	19.5 ±0.19
Bitki Başına Verim (g)	22.4 ±2.18	23.5 ±1.55	23.4 ±3.72
LSD (%) P = 0.05; n.s. Önemsiz. *, **, *** Sırayla farklılık 0.05, 0.01 ve 0.001 Düzeyinde.			

Shokrpour et al., (2011), meryemana dikeninin 25 genotipinde (23 İran orijinli ekotip ve iki tescilli çeşit), bazı agronomik özellikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada deneme deseni olarak tesadüf blokları desenini kullanmışlardır. Araştırmada varyans analizi sonucuna göre, incelenen özelliklerde ekotipler arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmada, bitkide çiçek sayısı, 1000 dane ağırlığı, bitki boyu, çiçek çapı, çiçekte tohum ağırlığı, verim (kg/ ha) ve çiçekte tohum sayısı gibi özellikler incelenmiştir. Bu özelliklere ait ortalama değerlerde ekotipler arasında farklılık olduğu saptanmıştır. Bu araştırmada deneme yılında (2008), çiçek sayısı 11.85- 26.92 adet, 1000 dane ağırlığı 15.13- 22.74 g, bitki boyu 166.48- 129.27 cm, çiçek çapı 3.78- 4.49 cm, verim 889.59- 2416.67 kg/ ha, çiçekte tohum ağırlığı 0.97- 1.89 g ve çiçekte tohum sayısı ise 51.64- 101.41 adet arasında değişmiştir.

2.9 Moleküler Çalışmalar

Moleküler markörlerin, bitki ve hayvan ıslahı, genetik farklılıkların kullanımı, adli tıp ve gen klonlamasında harita tabanı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Long Terminal Repeat (LTR) Retrotranspozonlar genomda yer alan moleküler markörlerden biri olarak bilinmektedir (Kalender et al., 2010).

Genomda yer değiştirebilen transpozon elementleri genomu dağılış halde bulunurlar. Genomun her yerine yerleşebilen retrotranspozonlar replikasyon dsnde, genomun orijinal elementlerinde eksizyon olmadan kopyalanıp yapıştırılmaları yolu ile bir yeni genom ortaya cıkmasına yol amaktadırlar. Tüm ökaryotlarda, retrotranspozonların cēēitli replikasyon fazlarındaki genel yapıları ve sorumluluk alanları yüksek derecede korunma altındadır. (Kalendar et al., 2010). Kalendar et al., 2010, yaptıkları araştırmada, PCR'a dayalı sekanlama ile retrotranspozon uçları veya elementlerin tamamını hızlı bir şekilde izole edebildiğini belirtmişlerdir. Bu sistem orphan crops ve diğer türlerde ki moleküler markör sistemleri gelişmemiş bir şekildedir mükemmel bir yöntemdir. iPBS amplifikasyon yöntemi nerdeyse kapsamlı bir şekilde, retrotranspozonların LTR'lerinde olan bir tRNA komplementari, reverse transcriptase (RT) primerinin bağlanma bölgesi (PBS) olarak cālıřmaktadır. Bu yöntem retrovirüsler ve endogenous retrovirslerde kullanılabilindiği gibi Gypsy ve Copia retrotranspozonların LTR'lerinde de kullanılabilir. Bunun yanında bitkiler ve hayvanlar aleminde de otonom olmayan Large Retrotransposon Derivatives (LARD) ve terminal repeat retrotransposons in miniature (TRIM) elementlerinde de kullanımı nedeniyle önceki retrotranspozon izolasyon yöntemleri ile farklıdır. Ayrıca iPBS amplifikasyon teknolojisinin, DNA sekansları ile ilgili araştırmacıların elinde sekans bilgisi olmadığı durumlarda DNA parmakizi markörü olduğu ispatlanmıştır.

Retrotranspozonlar neredeyse tüm ökaryot genomlarında çok bulunan ve dağınık bir şekilde mobil halinde olan ve tekrarlanan dizilerdir (Flavell et al. 1992; Voytas et al. 1992; Wicker et al. 2007). Yüksek bitkilerde, retrotranspozonlar tekrarlanan DNA'nın yarıdan çoğunu oluşturmaktadır (Schnable et al. 2009) ve genomun dinamik olan bu komponentlerinin yeni kopyaları kolaylıkla kromozom içi rekombinasyonda yerleşebilmektedirler (Kalendar et al. 2000; Belyayev et al. 2010). Bu komponentler geniş kapsamda kromozomlar içerisinde değişikliklik göstermekle beraber genel olarak yüksek kopya sayısına da sahiptirler (Ellis et al. 1998; Boyko et al. 2002; Alix and Heslop-Harrison 2004; Hedges and Batzer 2005; Schnable et al. 2009). Retrotranspozonlar bir taşıyıcı RNA aracılığı ile kromozomun yeni lokasyonuna hareket eder ve cDNA'nın yeni kopyalarını bu lokasyona yerleştirirler. Yüksek bitkilerde, bu replikasyon modu genom ve toplam DNA sayısının anlamlı şekilde

çoğalmasına neden olmaktadır. Farklı retrotranspozon familyaları (grup) genel yapı ve soylarına (lineage) bağlı olarak çeşitli dokularda aktifleşme ve evrimin yeni bir dönemini başlatma potansiyeline sahiptirler (Jing et al. 2005). Bitki genomlarında, long terminal repeats (LTRs) içeren retrotranspozonların birinci sınıfı baskın durumundadırlar (e.g., International Rice Genome Sequencing Project 2005; Schnable et al. 2009; The International Brachypodium Initiative 2010). Kromozomun her yerinde yaygın bir şekilde bulunan, yüksek kopya sayısı ve geniş kapsamda kromozomlarda birçok bölgede yerleşim yeri olan retrotranspozonlar, bitkilerde multipleks DNA'ya dayalı markör sistemlerinin gelişimi için mükemmel bir potansiyel sağlamaktadır (Shedlock and Okada 2000; Schulman et al. 2004; Kalendar and Schulman 2006).

Retrotranspozon tabanlı DNA parmakizi sistemleri, binlerce nükleotidin elementlerinin bulunduğu bölgeleri tespit etmektedir. Retrotranspozonların entegrasyon bölgeleri, genomik DNA'nın korunan LTR uçları ile bitişik sekanslar arasında gözükmemektedir. Çoğu retrotranspozon tabanlı markör sistemleri PCR'da genomik DNA'nın bu bağlantıları olan bölgelerinin amplifikasyonunu gerçekleştirmektedir. Primerler, LTR'nin dışına doğru ve LTR'den uzaktaki belirli bir elementler ailesi içinde korunan bir LTR bölümüne bağlanabilmek üzere tasarlanmıştır (Waugh et al. 1997; Syed and Flavell, 2006; Schulman et al. 2004), bir diğer retrotranspozon amplifikasyonu ise İnter-Retrotranspozon (IRAP) da yapılır (Kalendar et al. 1999; Kalendar and Schulman 2006) ve Retrotranspozon-Mikrosatellit mikrosatellit Polimorfizminin Amplifikasyonunu (REMAP) gerçekleştirir (Kalendar et al. 1999; Kalendar and Schulman 2006). RBIP ve TAM sistemleri, PCR'daki ürün boyut varyasyonları veya bu sekansların yerleşimi olmayan bu boş siteleri ile karşılaştırıldığında tam olarak ayırmacı olan amplifikasyon başarısına dayanır ve her bir spesifik bitişik bölgede genomik DNA'ya uyan primerlerin tasarımı için sekans ile ilgili bilgi olması gerekmektedir (Flavell et al. 1998, 2003).

LTR retrotranspozon markör sistemleri, MITE'ler ve SINE'ler gibi başka taşınabilir element tipleri ve diğer organizmalar için de kullanılabilir. Örneğin, insanda Alu adında SINE elementi Alu-PCR yöntemi adıyla kullanılan metod kavramsal olarak benzer bir şekilde hayvanların genom araştırmalarında IRAP adı ile kullanılmaktadır (Chariieu et al. 1992; Tang et al. 1995; Jurka 2004). Retrotranspozon markör sistemleri, kullanabilirlik, kolay uygulanabilirlik ve

genotip ayırlama gücü nedeni ile marköre dayalı olan seleksiyonlarda kullanıldığı gibi geniş kapsamda evrimsel ve genetik farklılık araştırmalarında da kullanılmaktadır (Feschotte et al. 2002; Kalendar and Schulman 2006; Schulman et al. 2004). Bunlara rağmen, LTR retrotranspozonlara dayalı olan moleküler markör sistemlerini sınırlayan faktör, yeni bitki türlerinde retrotranspozonlara dayalı markör sistemlerin gelişmesi için, retrotranspozon sekansları bulunmasına rağmen eğer genomun tam sekans bilgileri elde bulunmazsa, LTR uçlarının klonlama ve sekanslaması yapıldıktan sonra, markör olarak kullanabilirliği deneye tabi tutulmalıdır. Önceki yöntemler, bu işlemin gerçekleştirilmesinde, retrotranspozon poliproteinlerde özellikle de integrase veya reverse transcriptase 'da LTR uçlarına doğru hareket eden bir dejenere primerin korunmuş (sarılmış) bölgelerle eşleşmesi ile yapılan amplifikasyona dayanmıştır (Pearce et al. 1999). Bu işlem, korunmuş alanlar ve LTR'ler arasında uzun olan mesafeden dolayı zaman alabilmekte ayrıca eşleşen 5' LTR'nin yokluğunda 3' LTR korunmuş sekanslara yakın olduğu ve hem LTR retrotranspozonlarının, hem de sıklıkla primer yürüyüşüne müdahale eden entegrasyon yerlerinin tekrarlanması bu sistemin zorluklarından. Kalendar et al. (2010), bu problemlerin çözümü ile ilgili, her organizmada kullanılabilirlik kabiliyetine sahip olan retrotranspozon LTR'lerin izolasyon yöntemini genelleştirilmiş bir markör sistemi olarak açıklamışlardır. Bu yöntemin temeli replikasyon döngüsünde reverse transcriptase için primer fonksiyonu olan retrovirüs ve tRNAların retrotranspozon LTR'lerine dayanmaktadır. tRNA 5' LTR'nin yakınında olan primer bağlanma bölgesine (PBS) bağlanır ve reverse transcriptase ile cDNA sentezini başlatır (Marquet et al. 1995; Mak and Kleiman 1997; Kelly et al. 2003; Le Grice 2003) Funguslarda Tfl/sushi grubu, omurgalılar ve mısırdaki FOURF gibi çok az sayıda istisnai olan retrotranspozon LTRleri, tRNA primerini kullanmak yerine cDNA self-prime'inde başarılıdır (Le Grice 2003; Hizi 2008). Kalendar et al. (2008), TRIM retrotranspozonların klonladıkları bir tek PBS primerini Magnoliophyta (çiçekli bitkiler) ve Pteridophyta'ya (eğreltiotu) ait olan 50 tohumlu bitki türünde kullanmışlardır. Bu araştırmanın sonucu olarak, PBS'in korunmuş sekanslarının seti tam olarak kullanıldığında, genomik DNA'da klonlanmış olan her bir LTR segmentlerinin polimorfizmi doğrudan görülmektedir. Bu yöntem, tRNA'ya komplementer PBS bölgelerini içeren retrotranspozonlara sahip herhangi bir organizmada kullanılabilir.

Nemli et al., (2015), Türkiye’de fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)’nin 67 aksesyonunda genetik farklılıkları belirleme amacıyla 47 iPBS primeri kullanma sonucunda, 180 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Bu araştırmanın sonucuna göre, aksesyonlar arasında genetik benzerliği 0.09-0.99 aralığında, PIC değeri ise 0.73 olarak belirlenmiştir. Ayrıca popülasyon yapısı açısından kullanılan 67 fasulye aksesyonları dört ana gruba ayrılmıştır. Bu araştırmanın sonuçları iPBS markör yöntemi fasulye popülasyonlarında olan genetik farklılık seviyesinin belirlenmesinde başarılı bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Fang-Yong and Ji-Hong (2014), Çin’in Zhejiang Eyaleti’ndeki Çin koca yemişi’nin (*Myrica rubra*) 31 adet Germplazm kaynağının genetik farklılığını, iPBS ve başlangıç kodon hedefli (SCoT) polimorfizm markörlerini kullanılarak incelemişlerdir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, iki moleküler markörü kullanılarak test edilen örneklerin genetik benzerlik (GS) değerlerinin 0.50-0.94 aralığında olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, 38 çift primer kullanılarak 401 polimorfik bant da dahil olmak üzere yaklaşık 452 belirgin bant elde edilmiş ve polimorfizm oranı %88.72 olarak hesaplanmıştır. Genetik benzerliğin değeri, 0.70’in eşiği kullanıldığında, 31 *M. rubra* örneğini üç gruba ayırmışlardır. Bu eyalete ait olan dört önemli *M. rubra* varyetesi, önemli genetik farklılıklar göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, morfolojik indeks analizleri ile uyum sağlamaktadır. Ayrıca Zhejiang Eyaletindeki *M. rubra* germplasminin genetik farklılıkları olduğu koşulları belirlenmiş ve bunlar bitki ile ilgili genetik ıslah ve germplazm araştırma ve tanımlamaları için bir temel oluşturmuştur.

Chen et al. (2015), Geleneksel Çin tıbbında kullanılan azgın teke otunun (*Epimedium sagittatum*) 11 yabani popülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, bu bitki türünde bulunan dört flavonoid glikozit bileşeninin (epimedin A, B, C ve icariin) farklılık derecesini araştırmışlardır. Bu araştırmanın sonucunda, sekonder metabolit profilleri beş kemotipe ayrılmıştır. Bu çalışmada bu kemotip varyasyonunun önemli bir genetik temeli olduğu belirlenmiştir. Popülasyonlar arasında olan bu geniş genetik varyasyon, bir retrotranspozon tabanlı moleküler markör sistemi (iPBS) kullanılarak gösterilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, araştırmacılar bu araştırma sonuçlarının, *E. sagittatum*’un korunması, kullanılması ve kültür altına alınması stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacağı ifadesinde bulunmuşlardır. Ayrıca, *E. sagittatum* popülasyonlarının genetik varyasyonlarını ayırt etmede retrotranspozon tabanlı markör sisteminin kullanılabileceğini ifade

etmişlerdir (Chen et al., 2015). Transpoze edilebilir elementlerin doğal mobilite ve replikasyon özellikleri, popülasyonlar arasında genetik materyali değiştirmede çok özel bir rol oynamaktadır ve genotipler ile coğrafi dağılımlar arasındaki ilişkiyi açıklayabilmektedir. Transpoze edilebilir elementlerin biyotik veya abiyotik stres altında yatay transferleri, yani birbirlerine yakın olan popülasyonlar arasında paylaşılabilimleri, genetik özelliklere spesifik çevresel faktörlere daha yüksek uyum sağlamalarına izin verebilmektedir (Schaack et al., 2010).

Flavonoid biyosentez yolu, kompleks genetik düzenleyicilerin kontrolü altındadır. *E. sagittatum*'da flavonoid glikozidlerin biyosentezini düzenleyen R2R3-MYB gibi birçok transkripsiyon faktörü tanımlanmıştır (Huang et al., 2013a,b). *Epimedium*'daki EsPAL yapısal gen'lerin üç kopyasının da flavonoid sekonder metabolitlerin birikiminde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Zeng et al., 2013). Sonuç olarak, moleküler markörlerin varlığı veya yokluğunun, bu çalışmada görülen kemotipik farklılıklar ile mutlaka ilişkili olmadığı saptanmıştır. Bu araştırmada, kemotip ile genotip arasında herhangi korelasyon bulunmadığı belirlenmiştir. Ayrıca Amplifiye edilmiş iPBS lokuslarının, flavonoid biyosentez yolu düzenleyici genleriyle doğrudan bağlantılı olmama olasılığı belirlenmiştir.

Baranek et al. (2012), çalışmalarında, Çek Cumhuriyeti'nde Kayısı klonlarının ayrımı için retrotranspozon markör sistemlerinin faydalarını incelemişlerdir. Kayısı çeşitleri, genetik ve fenotipik özellikleri açısından çok az farklı olan çeşitli klonlardan oluşabilmektedir. Transpoze edilebilen elementler, diğer faktörlerin yanı sıra klonal varyasyona yol açan mutasyonların bir potansiyel kaynağı olarak düşünülebilmektedir. Bu nedenle, transpoze bölgelerden türetilen genetik markörler, klonların farklılıklarının belirlenmesi için uygun olmalıdır. Bu çalışmanın amacı, universal retrotranspozon türevli markör sistemleri sekans-spesifik polimorfizm (SSAP) ve iPBS markör sistemlerinin, DNA parmak izine dayalı olarak, klon farklılıklarının belirlenmesinde yararlarının yanı sıra, yaygın bir şekilde kullanılan diğer markör sistemlerine (SSR ve AFLP) göre de yararlarının belirlenmesidir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, SSAP ve iPBS markör sistemleri ile elde edilen sonuçların geleneksel AFLP yöntemi ile elde edilen sonuçlarla benzer oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle, bu retrotranspozon tabanlı markör sistemlerinin, klonal farklılıkların belirlenmesi için daha uygun bir sistem olduğu hipotezi doğrulanmamıştır. Bu çalışmanın bir diğer amacı da, Çek Cumhuriyeti'ndeki farklı bölgelerden toplanan kaysı çeşidinin klonları olarak

tanımlanan genotipler içindeki genetik farklılıkların seviyesini haritalamak ve bu klonları, orijinleri diğer ülkelerden kaynaklanan klonlarla karşılaştırmaktır. Bu araştırmanın sonuçları, Çek Cumhuriyeti ve diğer Avrupa ülkelerinde yetişen klonların benzer kökenlere sahip olduklarını göstermiştir.

Guo et al., (2014), Çin’de, 35 üzüm varyetesi arasındaki moleküler farklılıkları iPBS markör sistemini kullanarak incelemişlerdir. Bu çalışmada, iPBS primerlerinin arasından seçilmiş olan 15 primerden toplamda 99 polimorfik DNA bandı elde edilmiştir ve polimorfizm oranı % 86.3 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, etkinlik açısından üzüm bitkisinde, iPBS markörünün diğer retrotransposon esaslı markörlerle karşılaştırıldığında daha etkili olduğu ispatlanmıştır. Ayrıca, Çin’de kültüre alınmış olan ve yabancı üzüm varyeteleri arasındaki farklılık hem UPGMA kümeleme analizi ve hem de PCoA analizi ile açıkça gösterilmiş ve üzüm germplazının oldukça farklı ve zengin genetik farklılıklara sahip olduğunu belirtilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma, iPBS markörünün, üzüm genetik farklılıklarının değerlendirmesi için basit, bilgilendirici, tekrarlanabilir ve uygun bir yöntem olduğunu doğrulamıştır.

Baloch et al., (2015a), araştırmalarında, çoğunlukla Türkiye’ye ait olan mercimek türlerinin 50 hattında (altı yabancı ve bir kultivar) moleküler karakterizasyonu, yeni geliştirilmiş olan inter-primer binding site (iPBS) retrotranspozonları ve inter-sequence repeat (ISSR) markörlerini kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. Seçilmiş olan 10 iPBS primeri, toplamda 151 adet skorlanabilir bant oluşturmuş ve bu bantlardan 150’sinin polimorfik bant (% 99.3) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, % 100 polimorfizm gösteren 10 ISSR primerinden 138 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Bu çalışmada, ISSR markörleri için ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerinin (0.97), iPBS markörlerinden (0.90) daha yüksek olduğu hesaplanmıştır. *Lens orientalis*’in en yüksek farklılığa sahip olan tür olduğu, bu türün kültüre alınmış olan *Lens culinaris* türleri ile geniş şekilde döllenmiş olabileceği ihtimalini arttırmaktadır. Ayrıca kültürü yapılan varyetelerde yüksek polimorfizm seviyesi saptanmıştır (sırasıyla ISSR ve iPBS markörleri ile % 82.92 ve % 51.92). Bu çalışmada, iPBS ve ISSR grafikleri karşılaştırıldığında, klaster altında yer alan hat ve türlerin gruplandırılması açısından neredeyse benzer olduğu saptanmıştır. Ayrıca, araştırmacılar bu çalışmanın verilerine dayanarak, yabancı ve kültüre alınmış mercimek türlerinin moleküler karakterizasyonunda, iPBS-retrotranspozonların universal bir markör

olarak rolünü de vurgulamışlardır.

Baloch et al., (2015b), Türkiye'ye ait yerel nohut (*Pisum sativum*) çeşitlerinde, retrotranspozon markörlerini kullanarak çeşitliliği değerlendirmişlerdir. Bu araştırmada, nohutta 104 yerel çeşit ve 34 ıslah hattının moleküler karakterizasyonu, yeni geliştirilen iPBS-retrotranspozon markörleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Seçilmiş primerlerden, 12 iPBS-retrotranspozon primeri toplam 106 skorlanabilir bant oluşturmuş ve bunlardan 81'inin polimorfik (% 76.4) olduğu belirlenmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.33 ile 0.84 arasında değişmiş ve ortalaması 0.61 bulunmuştur. Bu araştırmada, genellikle aynı coğrafi bölgeden olan yerel çeşitler, yakın bağlantı analizinde farklı gruplara yerleştirildikleri için, bu genetik parametrelere dayalı gruplanmanın coğrafi orijinler ile yakından bağlantılı olmadığı gösterilmiştir. Popülasyon yapısı STRUCTURE programı kullanılarak belirlenmiştir ve bu popülasyonlar arasında $K = 3$ olan üç popülasyon ve $K = 5$ olan beş popülasyon tespit edilmiştir. Araştırmacılar, Türkiye orijinli nohut çeşitlerinde bulunan büyük çeşitliliğin, ıslah programının tasarımında genetik kaynak olarak kullanılabilir olduğunu ve ayrıca dünya çapındaki nohut ıslahı programlarına katkıda bulunabilme potansiyelini vurgulamışlardır. Ayrıca, nohut germplazmasının moleküler karakterizasyonu için iPBS-retrotranspozonlarının universal bir markör olarak rolünü de işaret etmişlerdir.

Borna et al., (2016), aslan otu (*Leonurus cardiaca* L.) popülasyonlarında, iPBS markörlerini kullanarak genetik farklılıkları inceleme altına almışlardır. Bu çalışmada aslan otunun 89 genotip (79'u İran orijinli ve 10'u Avustralya) ve buna yakın olan iki türün 15 popülasyonunda (*L. heterophyllous* Sweet ve *L. sibiricus* L.), iPBS markörlerini kullanarak moleküler varyasyon ve genetik ilişkiler değerlendirilmiştir. Yedi iPBS primerinin (dominant markörler) PCR sonucunda, 180 ila 4000 bp aralığında toplam 191 bant üretilmiş ve primerler için ortalama PIC, 0.2213 ila 0.3206 arasında değişmiştir ve ortalama değer ise 0.2921 olarak elde edilmiştir. Ortalama beklenen heterozigotluk (The mean expected heterozygosity) (0.134), Ortalama tarafsız beklenen heterozigotluk (the mean unbiased expected heterozygosity) (0.140) ve Shannon indeksi (Shannon's information index) (0.213), deneye tabi tutulan popülasyonlarda yüksek seviyede kendine döllenme olduğunu göstermiştir. Gruplandırma ve kümeleme analizi, tüm popülasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin üç ana gruba ayrılabilceğini

göstermiştir: *L. cardiaca*, *L. heterophyllus* ve *L. sibiricus*. Bununla birlikte, *L. cardiaca*'nın 89 popülasyon arasında, aynı coğrafi bölgeden toplanan genotiplerin kümeleme analizinde bir grupta yer aldıkları gösterilmiştir ve bu sonuç bu popülasyonlar arasında daha büyük, genetik benzerliğin olduğunu kanıtlamıştır. İran doğasına ait olan aslan otu popülasyonları oldukça farklı ve bol genetik çeşitliliğe sahip olmaları nedeni ile ıslah ve seleksiyon çalışmaları için bir temel oluşturmaktadır. Bu çalışmada kullanılan PCR'a dayalı iPBS genom parmakizi teknolojisinin, aslan otu ve ilgili türlerin popülasyonlarını ayırmada etkili ve düşük maliyetli olduğu belirlenmiştir.

Yıldız et al., (2015), yaptıkları araştırmada, 66 bamya popülasyonunda genetik çeşitliliği iPBS-retrotranspozon markörleri kullanılarak analiz etmişlerdir. Kullanılan 13 adet iPBS-retrotranspozon primerinden elde edilen toplam 88 banttan %40.2'si polimorfik tespit edilmiştir. Gen çeşitliliği ve Shannon enformasyon endeksi iPBS-retrotranspozonları için sırasıyla 0.01 ile 0.13 ve 0.02 ile 0.21 arasında belirlenmiştir. Ayrıca bu değerler SSR markörleri için 0.06 ile 0.46 ve 0.14 ile 0.65 arasında bulunmuştur. Retrotranspozonlar için polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0,12 ile 0,99 arasında değişirken, SSR için 0,52 ila 0,81 arasında değişmiştir. Retrotranspozonlar ve SSR'lere dayalı yakınlık bağlantı analizi, tüm popülasyonları dört gruba ayırmıştır. Bununla birlikte, bamya bitkisinde, SSR markörlerinin popülasyonları orijinlerine göre gruplandırmasında daha etkili olduğu ispatlanmıştır. Popülasyon yapısını belirlemek için STRUCTURE programı kullanılmıştır ve popülasyonlar arasından iki popülasyonun (varsayımsal alt popülasyon sayısında $K = 2$) tespit edilmiştir. Bu çalışma, Türkiye'de bamyanın düşük genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir ve araştırmacılar bu bitkiler için genetik çeşitliliğe sahip ülkelerden bitkilerin getirilmesi ihtiyacını vurgulamışlardır. Bu çalışma aynı zamanda, ökaryotik genomların baskın ve her yerde bulunan bir parçası olan iPBS-retrotranspozonlarının, bamya'daki çeşitlilik çalışmaları için faydalı ve önemli rolü olduğunu açıklamaktadır.

Cömertpay et al., (2015), çalışmalarında yedi ülkeden 81 ticari çeltik çeşidi arasında genomik ilişkileri belirlemek amacıyla dokuz iPBS - retrotranspozon ve 17 SSR markörü kullanmışlardır. Sonuçlara göre, SSR markörleri için toplam 59 allel ve iPBS-retrotranspozon markörler için ise 96 bant tespit edilmiştir. Farklılıkların her biri, SSR ve iPBS-retrotranspozon profilleri ile

kesin olarak tanımlanabilmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, IPBS-retrotranspozon ve SSR tabanlı gruplandırmanın aynı olduğu ve aralarında oldukça yüksek bir korelasyon bulunduğu saptanmıştır ($r = 0.73$). SSR ve iPBS retrotranspozon verilerinin kombinasyonuna dayalı olarak yakın bağlantı analizinde, çeltik çeşitleri üç gruba ayrılmıştır. Çalışmada, popülasyon yapısı STRUCTURE programıyla belirlenmiş ve incelenen çeşitler arasında üç popülasyon ($K = 3$) tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Türkiye çeltik çeşitlerinde genetik çeşitliliğin düşük olduğunu ortaya koymuştur.

Solberg et al., (2015), İsveç'te, nohutun yerel çeşitlerini inceleme amacıyla örnekler toplamışlardır. Ev bahçelerinde en azından 1950'lerden beri tutulan ve sebze, bakliyat ve diğer amaçlarla kullanılan nohutlara ait 170'den fazla popülasyon tohumu, ülke çapındaki "Tohum arama" sırasında toplanmıştır. Bu çalışmada, 32 bahçe nohutu popülasyonu taksonomik olarak karakterize edilmiş ve gen bankasında halihazırda bulunan 43 popülasyonla karşılaştırılmıştır. Örneklerde morfolojik tanımlayıcılara ek olarak SSR ve retrotranspozon tabanlı iPBS markörler uygulanmıştır. SSR markörünün beş primerinden elde edilen sonuçlarına dayanarak, dokuz çift / grup içinde veya popülasyonların % 25'inde yer aldığı bildirilmiştir. Bu analizler iPBS markörleriyle birleştirilerek, potansiyel tekrarlar beş çift / gruba düşmüştür. Moleküler markörler ile morfolojik tanımlayıcıların birleştirilmesi ile iki gruba ayrılabilmiştir. Grupların birisinin içerisinde dört buruşuk tohum ve diğer grupta ise iki buruşuk tohum yer almıştır. Bu çalışmada, genotipik ve fenotipik markörlerin kombinasyonun, doğru ve yanlış kopyaları tanımlamak için iyi bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır.

Mahmood et al., (2010), araştırmalarında, *Silybum marianum* L. 'in in vitro ve in vivo koşullarında yetiştirilen dokuları arasındaki somaklonal Polimorfik DNA seviyesinde genetik farklılıkları saptamak için RAPD markörlerini kullanmışlardır. Bu çalışmada RAPD markörlerine ait olan OPC serisinin 1- 10 bölümü kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, tüm primerler, OPC3 haricinde tekrarlanabilir bant modelini vermiştir. *S. marianum* örnekleri arasında tüm primerlerde monomorfik bantlar gözlenirken, sadece OPC10'un farklı bantlama modeli oluşturduğu görülmüştür. OPC 10 primerinin her bir örnekte 200 - 1000 bp arasında değişen boyutlarda 10 farklı bant ürettiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, *S. marianum*'un farklı numunelerinde genetik varyasyon bulunduğunu ve RAPD tekniğinin in vitro ve in vivo koşullarında yetiştirilen *S.*

marianum dokuları arasındaki genetik benzerlikleri ve farklılıkları saptamak için kullanılabilir olduğu belirlenmiştir.

Mohammadi et al., (2011), İran orijinli 32 *Silybum marianum* populasyonunun iki ticari varyeteye birlikte populasyon yapısını araştırmak için çoğaltılmış fragment uzunluğu polimorfizm (AFLP) analizini kullanılmışlardır. Toplamda 415 polimorfik markör lokusu, kombinasyon başına ortalama 15.37 markör içeren 27 primer kombinasyonu ile üretilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği, 0.24 ila 0.44 arasında değişmekte olup, primer kombinasyonu başına ortalama 0.35 ve markör endeksi 2.56-9.50 aralığında ve ortalama 5.37 olmuştur. Nei'e göre ortalama genetik çeşitliliği (HE) ve Shannon çeşitlilik indeksi (I) sırasıyla 0.201 ve 0.296 olarak saptanmıştır. Bu araştırmada, populasyonlar arasındaki farklılaşma katsayısı (GST) 0.44 olmuş, bu da toplam moleküler çeşitliliğin % 44'ünün populasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığını göstermiştir. Ayrıca kümeleme analizi ve ana koordinat analizine dayanan ve çoğunlukla populasyonların coğrafi gruplandırması ile uyuşan üç büyük grup tespit edilmiştir. Bu araştırmanın sonucuna dayanarak araştırmacılar, moleküler çeşitlilik tahmininin *S. marianum*'un geliştirmesi amacıyla geleneksel ve moleküler ıslah yöntemleri yoluyla uygun populasyonların seçilmesinde yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

AbouZid et al., (2014), *S. marianum* varyetelerini (mor ve beyaz çiçekli) DNA seviyesinde ayırt etmek ve doğrulamak için hızlı ve basit bir yöntem (RAPD) geliştirmiştir. Bu çalışmada, iki varyete, dört dekamer primeri (OPP-10, OPG-03, OPG-01 ve OPC-17) ile üretilen polimorfik bantlar tarafından ayırt edilmiştir. Ayrıca bu araştırmanın sonuçlarına dayanarak, araştırmacı, geliştirilmiş olan RAPD yöntemi, *S. marianum* varyetelerinin birbirinden ayırt etmesi ve bunların saflık seviyelerinin belirtilmesinde, pratik olarak doğrulanması için yararlı olacağı ifadesinde bulunmuştur.

Hammoda et al., (2009), Mısır'da yaptıkları bir ön araştırmada 12 *Silybum* genotipinin genomik DNA'larını ve toplam 20 RAPD primeri kullanarak, her bir genotipe ait bitkilerin PCR amplifikasyon yeteneği açısından değerlendirmişlerdir. RAPD analizinde, 20 primer arasından seçilen iki primerden 36 (% 28.125) polimorfik bant da dahil olmak üzere 128 skorlanabilir bant elde edilmiştir. Bu araştırmanın sonucunda, bant dizilimi, deneye alınmış olan genotipler arasında farklılıkları ortaya koymuştur. Romanya'ya ait genotipleri ve Mısır genotipleri

arasında bazı bant değışiklikleri bulunmuştur. Bu araştırmanın diğeri bir kısmı olarak, aynı genotiplerin arasında fitokimyasal farklılıkları inceleme altına alınmıştır. Farklı genotipler için HPLC analizlerinin sonuçları, en yüksek silychristin oranı Romanya'ya ait bir genotipte elde edildiğinin yanı sıra en yüksek Silydianin, Silybinin (A, B) ve toplam silymarin miktarı Mısır orijinli popülasyonlarında saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, silybum genotipleri arasındaki coğrafi ve genetik farklılıkları, RAPD parmakizlerinde ve silymarin içeriğinde önemli bir etkileri olduğunu doğrulamıştır.

2.10 Fitokimyasal Çalışmalar

2.10.1 Silymarin kimyası ve biyosentezi

Meryemana dikeninde bulunan asıl biyolojik aktiviteye sahip olan bileşenler flavonolignanlar grubu olarak bilinmektedir. Meryemana dikeninde hepatoprotektif özelliklere sahip olan flavonolignanlar grubuna silymarin adı verilmektedir. İlk başta silymarinin büyük bir kompleks molekülü olduğu düşünülmüş ancak 1974 yılında, silymarin aslında çeşitli flavonolignanlar karışımı olduğu bulunmuştur (Wagner et al., 1974). Flavonolignanlar flavonoid dihydroquercetin (diğeri adıyla taxifolin) ve coniferyl alcohol'un (lignanin bir bileşeni) serbest oksidatif radikallerin birleşmesinden oluşmaktadır (Kim et al., 2003; Kurkin, 2003). Bu reaksiyondan meydana gelen silybin formu, silymarinin en yüksek biyoaktiviteye sahip olan komponenti olduğu düşünülmektedir. Ayrıca silymarin içeriğinde silybinin rejiomerleri ve diastomerleri bulunmaktadır (Kurkin, 2003). Meryemana dikeninde üç ana ve asıl flavonolignan silybin (silybinin), silychristin ve silydianin'dir. Silymarinin bileşenlerinden, silybinin diasteroisomerleri (silybin A ve B) izole edilmiştir. Ayrıca isosilybin A ve B silybinin rejiomerleri olarak X-ray kristalografik analizi ve optikal rotasyon verileri ¹³C ve ¹³H NMR verileri ile birleştirilmelerinden teşhis edilmiştir (Lee and Liu, 2003), (Şekil 2.1). Kurkin et al. (2001), UV radyasyon ve ¹H-NMR spektroskopisini kullanarak 2,3-dehydrosilybinin tanımlamasında başarıya ulaşmışlardır. (Martin et al., (2006), silychristin A'i silychristinin diastomeri olarak keşfetmişler ve bu bileşene silychristin B adını vermişlerdir. Ayrıca

dehydrosilybin, desoxysilychristin, desoxysilydianin, silybinome, isosilychristin, silymonin, silandrin, silyhermin ve neosilyhermins A and B gibi diğer bileşenler de az miktarda da olsa silymarinde bulunmaktadır.

Meryemana dikeninde, flavonolignanlara ek olarak diğer bileşenlerde ilgi çekmektedir. Örneğin, son yıllarda, pentacyclic triterpenler grubuna ait olan iki bileşen tanımlanmış ve bu bileşenlere silymin A ve B adı verilmiştir (Ahmed et al., 2007).

2.10.2 Meryemana dikenini ekstraksiyonu

Meryemana dikeninden silymarin elde edilmesi için, istenen bileşenlerin ekstraksiyonu tohumlardan yapılmaktadır. Silymarin ekstraksiyonu beş aşamada gerçekleştirilebilmektedir ve her aşamanın optimizasyonu için dikkatle kontrol edilmesi gerekmektedir. Ekstraksiyon işlemi, matrisin (karışım) aktif bölümünden bileşenlerin desorpsiyonu, matrisin kendi içerisine bileşenlerin difüzyonu, analitik ekstrakt içerisinde çözündürmesi, bileşenleri ekstraktant içerisine difüzyonu ve çözültiden ekstrakt edilmiş bileşenlerin toplamamasından gerçekleşmektedir (Pawliszyn, 1993; Camel, 2001). Geleneksel olarak, bileşenlerin ekstraksiyonu sokslet ekstraksiyonu, sonikasyon (selenleme) ve karıştırma yöntemi ile yapılmaktadır. Ama bu yöntemler ile normal olarak, ekstraksiyon işlemi uzun süreye, çok miktarda çözügen ve düşük ekstraksiyon sıcaklığına ihtiyaç duymaktadır. Bunların yanı sıra genelde, bu yöntemlerle ekstraksiyonu yapılmış olan bileşenler, ekstraksiyonun ardından konsantrasyonun yükseltmesi için temizleme işlemi ve analiz öncesinde ise filtrasyona gereksinim duyulmaktadır. Bu aşamalar yüksek ihtimalle örneklerde bileşen kaybı veya konsantrasyon düşüşüne yol açmaktadır. Son on yılda bu problemleri azaltıcı ve ekstraksiyon prosesinin optimizasyonunun kolaylaştırıcı çok sayıda teknoloji geliştirilmiştir. Bu teknolojiler süper kritik sıvı ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli ekstraksiyonu içermektedir (Camel, 2001). Adı geçen ekstraksiyon yöntemlerin tümü meryemana dikenini analizleri için uygun olma potansiyeline sahiptirler.

2.10.3 Günümüzdeki metodoloji

Silymarin ekstraksiyonu için mümkün olan yöntemlerin açıklaması ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasının yanı sıra ekstraksiyonların hazırlanmalarıyla ilgili çeşitli  oneriler dikkat çekmektedir. Hidrofobik olan silymarin bileşenleri yüksek oranda meryemana diken i tohumlarında birikmektedir. E ektif silymarinin yüksek miktarda geri kazanılması için silymarin ekstraksiyonundan önce meryemana diken i tohumlarından sabit ya ları uzaklaştırmak gerekmektedir. Ayrıca silymarin bileşenleri polarite açısından geniş bir aralığı kapsamaktadır. Örneğin silymarin bileşenlerinde polarite, taxifolin yapısı gibi yüksek polariteden, silybin A ve B gibi sadece nisbi polariteye sahip olana kadar değişmektedir (Barreto et al., 2003). En yüksek ve noksansız ekstrakt elde edilebilmesi için çözgen, sıcaklık ve ekstraksiyon süreci uygun bir şekilde ayarlanmalıdır. Farmakopeler, sokslet apareyi ile ekstraksiyon sürecini bildirmektedirler. Noksansız ekstrakt elde edilmesi için ekstraksiyon süreci sonykasyon, vorteksleme ve santrifüj serilerine göre ayarlanabilmektedir. Bugüne kadar ekstrakt miktarını maksimuma ulaştırmak için, ekstraksiyon prosesleri ile ilgili yeni teknolojiler gelişmiştir.

2.10.3.1 Süper kritik sıvı ekstraksiyonu

Süper kritik sıvı ekstraksiyonunda (SFE) solvent kritik üstü bir vaziyettedir ve bu çözgenin sıcaklık ve basıncı kritik vaziyetin ötesinde olduğunu ifade etmektedir. Bu durum   zgene (sıvı ve gaz) sıvıya göre daha düşük viskozite ve daha yüksek difüzyon katsayısı özellikleri bir arada olduğu gibi benzersiz özellikler kazandırmaktadır ve daha çok etkili ekstrakt elde edilmesine izin vermektedir. Bu yöntemde ekstre edilmiş olan bileşenlerin polaritesi temel düşüncedir (Camel, 2001). Saf karbondioksit (CO₂), düşük kritik sabitleri, toksik olmaması, yanmaması ve yüksek saflıkta düşük fiyata sahip olması nedeni ile yaygın bir şekilde SFE’ de çözgen olarak kullanılmaktadır (Feher et al., 1989). CO₂, polar olmayan veya düşük polariteye sahip olan bileşenlerin ekstraksiyonunda yeterli olarak ekstraksiyon işlemini gerçekleştirebilmektedir. Ayrıca orta polariteden yüksek polariteye kadar ve iyonik bileşenlerin yeterli

(efektif) ekstraksiyonu için bir düzenleyici (modifier) çözünenin CO₂'a ilave edilmesi gerekmektedir (Camel, 2001).

Metanol CO₂ ile karışabilirliği yüksek olduğu ve çözünen ile bitki matrisi arasında olan bağları yüksek oranda bozabilmek düşüncesi nedeni ile genel olarak süper kritik ekstraksiyonda düzenleyici malzeme olarak kullanılmaktadır. Ayrıca etanol metanola göre daha düşük toksisiteye sahip olma nedeni ile düzenleyici olarak ilgi çekmektedir (Lang and Wai, 2001). Çok sayıda araştırma etanolün düzenleyici özelliği üzerine yapılmıştır. Catchpole et al. (2002), dört popüler bitki olarak, cüce palmye, mayasıl otu, kava biberi kökü ve ekinezya bileşenlerinin süper kritik ekstraksiyonu yöntemi ile ekstre etmesinde farklı çözünen karışımlarının etkisini incelemiştir. Bu araştırmanın sonucunda, etanol düzenleyici olarak CO₂ ile karıştırıldığında bazı bitkilerde ekstre edilmiş bileşenlerin miktarını arttırmıştır. Ayrıca ekstrakt içerisinde bazı renkli bileşenler ve ağır moleküllü vakslar gibi istenmeyen bileşenlerinde oranını arttırmaktadır. Bu çalışmada, süper kritik ekstraksiyonda çözüne etanol ilave edildiğinde istenen kimyasalların geri kazandırmasında bu bileşenlerin tümünün bitki matrisinden ayrılabilmesi başarılı olmamıştır. Örneğin ekinezyada, sadece CO₂ veya CO₂ ile etanol karışımı ile ekstraksiyon yapıldığında alkalamidlerin miktarı yüksek olmasına rağmen ekstrakta chicoric asit veya polifenolikler elde edilmemiştir.

2.10.3.2 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

Son yirmi yıldan beri, basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE) yeni bir ekstraksiyon tekniği olarak gelişmiştir. Bu ekstraksiyon formu accelerated solvent extraction (ASE™, a Dionex trade mark), pressurized fluid extraction (PFE), pressurized solvent extraction (PSE) veya enhanced solvent extraction (ESE) gibi farklı isimler altında bilinmektedir. Ekstraksiyonun bu formunda, sıcaklık ve basınç yüksek tutulmalıdır. Ayrıca çözünenin subkritik durumunda tutulması daha yüksek kütle transferi özelliğine sahip olabilmesi nedeni ile gerekmektedir. Sıcaklığın yüksekliği (genel olarak 100- 200 °C) çözünenin viskozitesinin düşmesine izin verir ve bunun sonucunda çözünen- matris interaksiyonunun bozulması ve difüzyon katsayısının yeterli miktardan daha çok olması ortaya

çıkılmaktadır. Ayrıca yüksek sıcaklık ekstraksiyonu yapılması istenen bileşenlerin dağılım katsayısının değişimine neden olup ve bu bileşenlerin daha yüksek oranda çözgen içerisinde çözülmesine izin vermektedir. Bu koşullar altında, örnekten noksansız bir ekstrakt alabilmek için tipik olarak 5- 10 dakika zamana ihtiyaç vardır (Camel, 2001).

Benthin et al. (1999), beş farklı tıbbi bitki çeşitinde basınçlı sıvı ekstraksiyonunun verimini inceleme altına almışlar ve elde edilen ekstraktları farmakope monografları ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın prensibi yüksek sıcaklıktaki sıvılarla statik (sabit) ekstraksiyondur. Meryemana dikenini için farmakope rehberlerinde, ilk aşamada sokslet cihazında dört saat boyunca petrol eter çözgeni ile sabit yağları uzaklaştırmak ve ardından flavonolignanların ekstraksiyonu için beş saat boyunca sokslette metanol ile yıkanması gerektiği kayıtlıdır. Bu yöntemle elde edilen ekstraktlar, PLE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. PLE ekstraksiyonunda, ekstraksiyonun tek bir döngüsü olarak beş dakika boyunca 100°C n- hexane ile sabit yağlar uzaklaştırılıp ve ardından flavonolignanların ekstraksiyonu beş dakika süreç içerisinde 100°C sıcaklığı olan metanol ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar, PLE yöntemi ile meryemana dikenini ekstraksiyonunda farmakope rehberlerine göre daha kısa zamanda nispeten yüksek miktarda silymarin elde etmişlerdir. Bunların yanı sıra PLE yönteminde çözgen kaybının farmakope rehberlerine göre beş kat daha az olduğunu saptamışlardır. Toplamda, PLE yönteminde zaman ve çözgen tüketimi açısından anlamlı şekilde tasarruf olduğu ve ekstrakt miktarı farmakope rehberleri ile eşit veya daha çok olduğunu ifade etmişlerdir.

PLE ekstraksiyonuna çözgen olarak mümkün olan diğer seçeneklerden biri de sıcak su kullanılmasıdır. Sıcak su polar bileşenlerin ekstraksiyonunda yararlıdır. Ayrıca su benzersiz kabiliyeti ile bitkisel materyallerden sabit yağları uzaklaştırmadan ekstraksiyonu gerçekleştirebilmektedir. Su subkritik sıcaklığına kadar ısındığında, di elektrik sabiti veya permeabilitesinde bir düşüş veya azalma meydana gelmektedir. Bu yüzden suyun di elektrik sabiti 250°C'da 27'dir ve bu miktar metanol (33) ve etanolün (24) di elektrik sabitleri ile benzerdir. Bu sıcaklık suya metanol ve etanolü çözebilme özelliğini kazandırmaktadır (Barreto et al., 2003). Bir PLE hücresinde, suyun sıcaklığı, zaman diliminde ilerleyerek yükseltilebilir ve bu işin temeli örnekteki ekstraksiyonu yapılması istenen bileşenlerin polaritelerine dayanmaktadır ve sıcaklığın artmasıyla bitki matrisinin

içerisinde olan çeşitli bileşenler matrizen ayrılabilir. Örneğin Barreto et al. (2003), deneme materyali olarak meryemana diken tohumları örneğinde, daha polar bileşenlerin (taxifolin ve silychristin) ekstraksiyonunu 85°C sıcaklıkta olan su ile gerçekleştirmiştir. Ayrıca düşük polariteleri olan bileşenlerin (silybin A ve B) ekstraksiyonu 100°C'da gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarından bir diğeri ise sıcak su ile elde edilen ekstrakt geleneksel yöntem olarak sokset aparatı ile elde edilen ekstraktla karşılaştırdıklarında, su ile elde edilen ekstraktta etanolle elde edilmiş olan ekstraktta göre, daha polar olan bileşenlerin oranı daha yüksek bulunmuştur. En sonunda, sıcak suyun çözgen olarak avantajlarından biri de elde edilen ekstraktın tekrar yıkanmasının gerekmemesidir.

2.10.3.3 Mikro dalga yardımı ile ekstraksiyon (MAE)

Diğ bir uygun ve yararlı (efektif) ekstraksiyon yöntemi de mikro dalga yardımı ile ekstraksiyondur. Mikro dalga radyasyonları çözgen- örnek karışımının ısıtmasında kullanılmaktadır. Mikro dalga enerjisi iyonize olmadığı için iyonların migrasyonu ve dipolların rotasyonu ile moleküllerin hareketine neden olmaktadır. Çözgen ve örnekte dipolların rotasyonu moleküllerle aynı yönde olmaları nedeni ile bir elektrik ortaya çıkarmaktadır. Mikro dalgalar ekstraksiyon hücrelerinde kullanılmaktadırlar, moleküller bir termal düzensizlik döngüsüne girer ve ardından tekrar hizalanırlar. Bu sonuçlar hızlı ısınmada elde edilmektedir. Hızlı ısınma sebebi ile ekstraksiyonda bu sonuçlar aniden ısınma nedeni ile örneğin merkezinde ortaya çıkmaktadır. Tipik olarak, çözgen seçiminde, mikro dalga absorbsiyonunda hem örnek ve hem çözgenin ısınmasına izin verilmelidir. Buna rağmen, termolabile bileşenler için, bileşenler soğuk çözgen içerisinde yayılabilirleri için mikro dalgaları absorbe etmeyen bir çözgen kullanılabilir. Araştırmaların sonucuna dayanarak, bugüne kadar eğer ekstraksiyon hücresinde sıcaklık bileşenlere ait ısınma sınırını aşmazsa, mikro dalga radyasyonu ekstraktı yapılmış olan bileşenlerin üzerine hiçbir parçalanma etkisi koymamaktadır (Camel, 2001). Çok sayıda araştırma, deneme materyali olarak çeşitli bitkiler üzerine mikro dalga ekstraksiyonunun etkisi incelenmiştir. Bitki ve çözgen kullanımına dayanarak bir dakikanın altında sürede ekstraksiyon elde edebilmesi için de çok sayıda araştırma yapılmıştır (Huie, 2002).

2.10.4 Silymarin bileşen analizi

Son otuz yılda, tıbbi bitkilerden ekstrakt elde edebilmesi için çok sayıda teknik tavsiye bulunmaktadır. Meryemana dikenini analizinde, yüksek etkiye sahip olan tekniklerin çoğu yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) bir dedektör ile birleşmiş vaziyette sıvı kromatografisi (LC) ile ayrılmış olan bileşenlerin kimyasal yapılarının tanımlama kapasitesini içermektedir. Bu analizlerde, genel olarak sıvı kromatografisinin (LC) yararlarından analiz hızı, örneklerde dekompozisyon olmama ve materyal kaybı veya artifakt formasyonunun olmamasına işaret edilebilmektedir. Bu alanda çok sayıda olan tavsiyelerin bazıları HPLC 'in UV diode (LC/ UV), kütle spektrofotometrisi (LC/ MS) veya nükleer manyetik rezonansı (LC/NMR) ile birleşmiş vaziyette bileşenlerin tanımlanmasını gerçekleştirebilmesini beyan etmektedirler. Bu yöntemlerin her birinin bileşenlerin yapısının açıklaması ve/ veya tanımlamasının perspektifinden faydalı olduğu ispatlanmıştır (Hostettmann and Marston, 2002).

Minakhmetov et al. (2001), meryemana dikenini tohumlarında bulunan flavonolignanların tamamını HPLC analizleri yoluyla ayırt etmesi, tanımlaması ve kuantifikasyonunda başarıya ulaşmışlardır. Ayrıca meryemana dikenini için HPLC ile optimum parametreleri keşfetmişlerdir. Bu araştırmada, mobil faz asetonitril ve sudan (27: 73 yüzde bazında, pH 3.0) oluşmuştur. Mobil fazın pH'nın ayarlanması ise etanoik asiti suya ilave ederek yapılmıştır. Bu analiz yoluyla silybin, silydianin, silychristin ve taxifolinin çözülmeleri ve tanımlamalarında başarıya ulaşmışlardır. Ayrıca bu araştırmada, 2, 3-dehidrosilybin standart olarak kullanılmıştır ve bir eluent olarak bulunmamıştır.

Meryemana dikenini örneklerinin analizinde, çok sayıda araştırma sıvı kromatografisi kütle spektrofotometri ile birleşmiş olarak yapılmıştır. Bilal et al. (2001 and 2002), armut çiçeği, meryemana dikenini ve tutku çiçeği analizi üzerine LC/ MS kullanarak yaptıkları araştırmaları yayımlamışlardır. Bu araştırmada, kullanılan HPLC metodunun parametrelerin benzerlik oranı Minakhmetov et al. (2001)'in buldukları parametreler ile çok yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu araştırmada, MS bir dedektör olarak kullanıldığında, mobil fazdaki suyun pH'nı 3.0 ayarlanmasında formik asit kullanılmıştır (Bilal et al., 2002; Bilal et al., 2001). Silymarin analizinde kullanılabilen diğer analitik yöntemlerden biri de kapılar elektroforezidir (CE). Kvasnicka et al. (2003), meryemana dikeninin HPLC ile CE

analizlerden elde edilen sonuçları karşılaştırmışlardır. Bu araştırmanın sonucuna göre, her iki yöntemle elde edilen sonuçların karşılaştırılabilir olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca CE ile analiz daha kısa sürede yapılmış ve silydianin ve silychristinin rezolasyonu HPLC sonuçlarına göre daha iyi olduğunu saptamışlardır. Bunların yanı sıra HPLC isosilybin A ve B'nin diasteroizomerlerinin ayrılmasına izin vermiştir. Warren (2003), hidroponik koşullarında, meryemana dikenini flavonolignanları üzerine nitrojen seviyelerinin etkisini incelemek için kapılar elektroforez analizini kullanmıştır. Bu araştırmanın sonucunda, bu yöntem ile taxifolin, silybin ve silydianinin tanımlamasında başarılı olunmuştur.

Lee et al., (2007), Ticari standartlara uygun silymarin ekstraktlarında bulunan aktif bileşenleri sıvı kromatografi-elektrosprey iyonlaşma kütle spektrometresi ile analiz edip karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada araştırmacılar, standartlaştırılmış olan ticari silymarin ekstraktlarında altı aktif maddenin eşzamanlı olarak nicelendirilmesi için hassas bir yöntem, kütle spektrometresi (MS) ile kombinasyon halinde sıvı kromatografiye (LC) dayanılarak geliştirmişlerdir. Bu çalışmada, silydianin, silychristin, silybinin diastereoizomerleri (silybin A ve B) ve isosilybin diastereoizomerleri (isosilybin A ve B), silymarinin altı ana aktif bileşeni olarak LC / MS ile tamamen ayrılmış ve nicelleştirilmiş ve farklı ticari silymarin kaynakları arasında önemli farklılık bulunmuştur. Sonuç olarak, bu yöntem, ticari meryemana dikenini ekstraktlarında altı aktif bileşenin değerlendirilmesinde ve ölçülmesinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır.

Radjabian et al, (2008), araştırmalarında, İran'ın bazı yerli meryemana dikenini ekotipleri ve tohumlarından elde edilen silymarin örneklerinin flavonolignan oranı ve içeriğinin farklılığını HPLC yöntemi ile incelemişlerdir. HPLC yöntemi flavonoid bileşenleri, özellikle de silybin A ve B'nin diastereomerleri arasında iyi bir ayırma izin vermiştir. HPLC ile elde edilen niteliksel ve niceliksel verilere göre, silymarin numunelerinin, flavonolignan bileşimi açısından aynı olduğu açıkça gösterilmiş ve esas olarak bileşenlerinin oranına göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Yerli ekotiplerden elde edilen silymarin örnekleri, tescilli çeşit ile kıyaslandığında daha düşük miktarlarda silybine sahip oldukları görülmüştür, ancak yerli ekotiplerde silychristin, silydianin ve isosilybinin gibi diğer bileşiklerin daha fazla miktarda olduğu saptanmıştır.

Kvasnicka et al., (2003), çalışmalarında, silymarinin toplam antioksidan statüsünü belirlenme amacı ile sekiz farklı silymarin örneğinde, HPLC ve kapiller elektroforez (CZE) yöntemlerini kullanarak silymarinin dört ana bileşenini ayırarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre, deneye tabi tutulan çeşitli silymarin örneklerinde, HPLC ile elde edilen sonuçlar CZE yönteminin sonuçlarıyla karşılaştırılabilmiştir. Örneklerde CZE yöntemi silydianin ve silychristini daha kısa sürede analiz etmesi ve daha iyi ayrışması için, bu yöntemin başlıca avantajlarından sayılmıştır. Ayrıca bu çalışmada, toplam antioksidan kapasitesi sonuçlarının, HPLC ve CZE ile tespit edilen flavonolignanlar içeriğiyle korelasyonu olduğu belirlenmiştir.

Graf et al., (2016), çalışmalarında, meryemana dikeninin tohumlarından hazırlanan ekstraktta, ana sekonder metabolitler olarak bir seri flavonolignan ve bir flavonoidin analizi için bir yöntemin açıklamasında bulunmuşlardır. Bu yöntem, bu bileşiklerin kantitatif analizi için doğrulanmış ilk UHPLC MS-MS yöntemini temsil etmektedir. Bu yöntem, UHPLC ile elde edilebilen mükemmel çözünürlükten yararlanarak 7 dakikadan daha kısa bir sürede eksiksiz bir analiz gerçekleşmesini sağlayabilmektedir. Araştırmacılar, bu yöntemin avantajlarından, hem UV hem de MS dedektörleri kullanılarak gerçekleştiği ve farklı analitik enstrümantal türlerine sahip laboratuvarlarda kullanılabilirliği ifadesinde bulunmuşlardır. Bu yöntem ile elde edilen nicellemenin alt sınırları, UV ile 0.0400 ila 0.060 μM ve MS ile 0.0800 ila 0.160 μM arasında değişmektedir. Ayrıca araştırmacılar, bu yeni yöntemi, çeşitli ticari *S. marianum* ekstraktlarında bileşen kompozisyonundaki değişkenliğini değerlendirmek ve DMSO'da meryemana dikenini bileşiğinin depolanmasının indirgemeye yol açtığını göstermek için kullanabilir olduğunu ifade etmişlerdir.

Ding et al., (2001), silymarinin aktif komponentlerinin ters faz HPLC yöntemini kullanarak belirlenmesi amacı ile silybin, silychristin, silydianin ve isosilybin içeren standart karışımı ve silymarin örneklerini çözdükleri gibi silybin ve isosilybin standartlarında 10 ml metanolde çözmüşlerdir. Hazırlanan çözeltilerin her birisinden 10 μl HPLC cihazına enjekte etmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, silychristinin % 99.66, silydianinin % 99.48, silybinin % 100.0 ve isosilybinin % 98.72'lik geri kazanılmasında başarılı olmuşlardır.

Quaglia et al., (1999), yaptıkları çalışmada, silymarin içeriğinin

belirlenmesi için, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve yüksek performanslı kapilar elektroforez yöntemlerini kullanmışlardır. Bu araştırmada, HPLC ve HPCE ile elde edilen nitel ve nicel veriler karşılaştırılmıştır. Sonuçlara göre, HPLC, silybin ve isosilybin arasında iyi bir ayırma izin verirken, HPCE tarafından da benzer bir performans elde edilememiştir. Bununla birlikte, HPCE sonuçları HPLC ile elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında silybin, silychristin, silydianin ve taxifolin arasında en iyi şekilde bir ayrılmaya izin vermiştir.

Cai et al., (2009), meryemana dikenli meyvelerinden sıcak su ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktta silymarin oranı ve içerdiği flavonoidleri inceleme amacı ile HPLC ve LC-MS yöntemlerini kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Bu analiz esnasında HPLC’de ayrılma bir ODS kolonu üzerinde tamamlanmıştır. Ayrıca ayrılma gradyan elüsyonlu mobil faz olarak %1 sulu asetik asit çözeltisi ve metanol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, silybin diastereomerleri (silybin A ve silybin B) ve isosilybin diastereomerlerinin (isosilybin A ve isosilybin B) ayrılması için mobil fazdaki organik düzenleyici moleküller arasındaki etkileşim açısından açıklanmıştır ve metanolün, asetonitrilden daha iyi olduğu ispatlanmıştır. *Silybum marianum* öğütülmüş ve yağsız tohumu ve standart ekstraktında silybin ve silymarin içeriği yeterli bir şekilde geri kazanılıp ve hassaslıkla belirlenmiştir. Ayrıca, *Silybum marianum* tohumundan kaynar su ile elde edilen silymarin flavonoidlerinin ekstraksiyon oranı, iyi kanıtlaması kantitatif yöntemine dayanarak değerlendirilmiştir.

Taha et al., (2015), çalışmalarında, aktif botaniksel bileşenlerin seçimi için ekstraksiyon parametreleri, kimyasal parmak izi ve tek bileşiklerin aktivite seviyeleri göz önüne almışlardır. Bir ilk inceleme olarak, 21 sulu ve 21 etanolik bitki ekstraktının toplam biyolojik aktivitesi (toplam indirgeme kapasitesi, toplam flavonoid içeriği ve serbest radikal süpürme kapasitesi) araştırılmıştır. Etanolik ekstraktların daha yüksek bir verime sahip oldukları belirlenmiş ve HPLC, tekli flavonoidlerin ve diğer biyoaktif bileşenlerinin parmakizlerini ayrıntılı olarak belirlemek için kullanılmıştır. Örnek olarak, zerdeçal (*Curcuma longa*) ve meryemana dikenli (*Silybum marianum*) için gösterilen, etkili yönlendirilmiş analizler (EDA), seçilen üç (biyo) tahlil, *Aliivibrio fischeri* biyotahlili, *Bacillus subtilis* biyotahlili ve 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Prensiplerin bir kanıtı olarak, ekstraktlarda bulunan biyoaktif

bileşenler HPTLC-MS yöntemi kullanılarak teyit edilmiştir. Bu çalışmada, curcumin ve silybin gibi bilinen tek aktif bileşiklerin tanıtımında yüzeysel (planar) kromatografisi ile biyolojik tahlillerin kombinasyon halinde, doğrudan bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Ancak, örneklerde bazı bilinmeyen biyoaktif bileşenler keşfedilip karakterize edilmiştir. Bu sonuçlar EDA'nın gücünü ortaya koymuştur. Ayrıca, araştırmacılar HPTLC-UV / Vis / FLD-EDA-MS yöntemi aktif botaniksel ürünlerin seleksiyonu ve aktif içeriklerdeki etkinlik profillemesi için yararlı bir araç olabileceği ifadesinde bulunmuşlardır. HPTLC-EDA-MS ayrıca, etkili fitokimyasallar değil, aynı zamanda gıda işlemi ya da kontaminasyon ürünleri, kalıntılar ya da metabolitler sırasında bilinmeyen biyoaktif indirgeme ürünleri algılanabileceğinden, gıda alım tarafındaki gıdaların biyoaktivite profili için de tavsiye edilebilir. Böylece, potansiyel gıda alımının sağlığa etkileri üzerine etkili bir anket elde edilebilir. Hem toplam parametre tahlillerini hem de HPTLC analizini gerçekleştirdikten sonra, her iki yaklaşımın karşılaştırılması yapılmış ve tartışılmıştır.

Abou Zid et al., (2016), yaptıkları çalışmada, Mısır'ın kuzey, orta ve güney bölgelerinde yetişen *Silybum marianum*'un kimyasal çeşitliliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada, değişiklik, bitkinin meyvelerindeki bireysel silymarin bileşenlerinin içeriğine göre değerlendirilmiştir. Araştırmada, meyveler (tohumlar) lokasyon, bitki çeşitliliği ve meyve rengi bakımından ayırt edilmiştir. Silymarin bileşenleri içeriğinin kantitatif analizi, taxifolin, silybin A, silybin B, isosilybin A, isosilybin B, silychristin, isosilychristin ve silydianin dahil olmak üzere qNMR ile kontrol edilen referans standartlarına sahip yedi ana flavonolignanın analizleri HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucuna göre, taxifolin diğer silymarin bileşenlerine göre en düşük korelasyona sahipken, silybin A ve silybin B arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Klaster analizinde, örnekler üç gruba ayrılmıştır: silydianin oranı yüksek olan, ortalama silymarin içeriği 18,8 mg / g altında olan ve ortalama silymarin içeriği 18,8 mg / g üstünde olan örnekler grubu. Ayrıca, meyve rengi ile silymarin içeriği arasında herhangi bir korelasyon bulunmadığı meyve olgunluğuyla da anlamlı korelasyon olmadığını göstermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Denemede kullanılan tohumluk materyali

Araştırma materyalini İran ve Türkiye orijinli 17 popülasyon ile Macaristan kökenli tescilli bir çeşit (Budakalaszi) oluşturmuştur. Türkiye ve İran orijinli 17 meryemana dikenli popülasyonunun tohumları (*Silybum marianum* L.), 2013 yılı Mayıs ve Haziran aylarında 16 bölgeden, bitkilerin doğal ortamlarından toplanmışlardır. Diğer yandan denemede kullanılan tescilli çeşit, “İran, Biyolojik Gen Merkezi”nden (İran, Gen Bankası) temin edilmiştir. Popülasyonların kökenlerine ilişkin coğrafi bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan meryemana dikenli bitkisinin tohumlarının temin edildiği orijinler ve bunlara ait coğrafi bilgiler

No.	Popülasyon	Orijin	Enlem (N)	Boylam (E)	Rakım
1	Ahvaz	İran	31°21'	48°42'	19.8
2	Ardabil	İran	39°37'	47°51'	55.2
3	Damavand	İran	35°42'	52°03'	2056.5
4	Darram <u>a</u>	İran	37°01'	48°46'	503.2
5	Darram <u>b</u>	İran	37°01'	48°46'	503.2
6	Firozabad	İran	28°50'	52°33'	1326.5
7	Kermanshah	İran	34°19'	47°03'	1342.7
8	Roodbar	İran	36°47'	49°24'	203.6
9	Sari	İran	36°35'	53°05'	19.2
10	Shayban	İran	31°25'	48°48'	20.4
11	Zanjan	İran	36°40'	48°24'	1594.5
12	Ankara	Türkiye	39°57'	32°51'	866.9
13	Aydın	Türkiye	37°45'	27°45'	64.95
14	Bornova	Türkiye	38°27'	27°13'	25.61
15	Cumaovası	Türkiye	38°15'	27°08'	116.13
16	Manisa	Türkiye	38°36'	27°28'	28.94
17	Menemen	Türkiye	38°33'	27°02'	4.88
18	Budakalaszi	Tescilli Çeşit	-	-	-



Şekil 3.1. Meryemana diki popülasyonlarının doğadan toplama aşaması

3.1.2 Araştırma alanının iklim özellikleri

Denemenin yürütüldüğü yıllara (2013- 2014 ve 2014- 2015) ilişkin iklim verileri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Meryemana diki bitkisinin yetiştirme süresi boyunca deneme alanına ait ortalama sıcaklık ve toplam yağış miktarı.

	2013–2014		2014–2015	
Aylar	Sıcaklık °C	Yağış (mm)	Sıcaklık °C	Yağış (mm)
Ocak	14.8	128.9	14.3	21.6
Şubat	8.4	9.1	12.1	163.4
Mart	11.4	108.5	8.5	133.3
Nisan	11.3	28.0	9.5	70.1
Mayıs	13.2	69.2	12.0	57.8
Haziran	17.1	105.9	15.0	21.0
Temmuz	21.2	6.4	22.0	96.2
Ağustos	25.0	40.3	24.6	30.9
Eylül	28.2	0.9	28.7	0.2
Ekim	28.3	21.1	29.3	1.0
Kasım	24.0	10.9	26.4	12.9
Aralık	19.3	56.0	19.7	48.1
Ortalama	18.52	-	18.51	-
Toplam	-	585.2	-	656.5
İklim Bilgileri Bornova, Zeytincilik Araştırma Merkezin’den Alınmıştır				

3.1.3 Deneme alanının toprak özellikleri

Deneme öncesinde, deneme alanı toprağının bazı kimyasal ve fiziksel analizleri yapılmıştır. Toprak analiz sonuçlarına göre deneme yeri Meryemana dikenini yetiştirmek için uygun görülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Deneme alanına ait toprağın kimyasal içeriği ve fiziksel özellikleri

Deneme Toprağı	Ekim Öncesi	Analiz Sonuçlarına Göre
pH	7.32	Normal
Toplam Tuz %	0.08	Normal
Kireç %	19.89	Yüksek
Bünye	Tın	Uygun
Toplam % N	0.13	İyi
Alınabilir Ca (ppm)	4090	Yüksek
Alınabilir Mg (ppm)	118.30	Normal
Alınabilir Na (ppm)	78.26	Normal
Alınabilir Fe (ppm)	3.34	Kritik Orta
Alınabilir Cu (ppm)	1.92	Yeterli
Alınabilir Zn (ppm)	2.45	Yeterli
Alınabilir Mn (ppm)	8.79	Yeterli

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Tarla denemesi ve deseni

Araştırma 2013-2014 ve 2014-2015 yıllarında E.Ü Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanında yürütülmüştür. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre dört tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Çalışmada parsel boyutları 200 cm×300 cm olup, bitkilerin sıra arası ve sıra üzeri mesafeleri 50 cm olacak şekilde ekimler ilk yıl 2 Kasım 2013, ikinci yıl 6 Kasım 2014 tarihlerinde gerçekleştirilmiştir. Denemeye ait çimlenme, çiçeklenme ve hasat tarihleri Çizelge 3.4’de sunulmuştur.

Çizelge 3.4. Denemeye ait çimlenme, çiçeklenme ve hasat tarihleri

No.	Popülasyon	2013-2014			2014-2015		
		Çimlenme	Çiçeklenme	Hasat	Çimlenme	Çiçeklenme	Hasat
1	Ahvaz	25.11-12.1	27.3-6.4	8.5-28.5	20.11-3.12	26.3-3.4	15.5-2.6
2	Ardabil	15.12-12.1	24.3-7.4	8.5-25.5	16.11-4.12	12.3-3.4	15.5-2.6
3	Damavand	25.11-12.1	24.3-10.4	12.5-7.6	20.11-3.12	6.3-31.3	18.5-10.6
4	Darram a	25.11-25.12	1.4-10.4	8.5-6.6	17.11-6.12	18.3-3.4	15.5-2.6
5	Darram b	25.11-25.12	6.4-10.4	8.5-6.6	17.11-6.12	18.3-3.4	15.5-2.6
6	Firozabad	25.11-5.1	24.3-9.4	4.5-7.6	18.11-30.11	4.3-29.3	15.5-9.6
7	Kermanshah	25.11-5.1	28.3-10.4	8.5-6.6	16.11-27.11	22.3-8.4	15.5-2.6
8	Roodbar	25.11-5.1	28.3-10.4	8.5-6.6	17.11-29.11	18.3-7.4	15.5-2.6
9	Sari	25.11-25.12	27.3-10.4	4.5-29.5	18.11-4.12	17.3-28.3	15.5-2.6
10	Shayban	25.11-25.12	26.3-7.4	4.5-6.6	17.11-5.12	18.3-28.3	15.5-2.6
11	Zanjan	25.11-15.12	4.4-12.4	17.5-4.6	19.11-4.12	5.4-16.4	19.5-9.6
12	Ankara	25.11-15.12	1.4-10.4	8.5-7.6	20.11-9.12	5.4-17.4	24.5-9.6
13	Aydın	25.11-25.12	1.4-9.4	8.5-5.6	18.11-10.12	28.3-6.4	18.5-2.6
14	Bornova	25.11-25.12	28.3-12.4	8.5-6.6	17.11-8.12	28.3-6.4	17.5-2.6
15	Cumaovası	25.11-5.1	1.4-18.4	19.5-6.6	16.11-26.12	8.4-16.4	28.5-10.6
16	Manisa	25.11-5.1	1.4-10.4	13.5-6.6	21.11-30.11	1.4-13.4	24.5-2.6
17	Menemen	25.11-5.1	1.4-12.4	8.5-7.6	17.11-25.11	28.3-7.4	15.5-9.6
18	Budakalaszi	25.11-5.1	24.3-10.4	4.5-6.6	22.11-3.12	13.3-23.3	15.5-2.6

3.2.2 Laboratuvar denemeleri

Bu araştırmada Türkiye ve İran orijinli 17 meryemana dikenli popülasyonu ile tescilli Budakalaszi çeşidinin fitokimyasal analizleri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Laboratuvarında yürütülmüştür. Ayrıca moleküler analizler Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Bitki Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılmıştır.

3.3 Agronomik ve Morfolojik Özellikler

Denemede agronomik ve morfolojik özellikler 3.4 başlığı altında incelenmiştir.

3.3.1 Bitki boyu (cm)

Çiçeklenme sonrasında seçilen her parselden beş bitkinin toprak yüzeyinden en uç noktasına kadar olan yükseklikleri cm olarak ölçülerek ortalamaları hesaplanmıştır.

3.3.2 Yan dal boyu (cm)

Hasattan hemen önce, boyları ölçülen beş bitkinin yan dal boyları ana saptan ayrılan nodiden yan dalın en uç noktasına kadar olan uzunlukları ölçülmüş ve cm cinsinden ortalamaları hesaplanmıştır.

3.3.3 Yan dal sayısı (adet)

Hasattan hemen önce her parselden boyları ölçülen beş bitkinin yan dalları adet olarak sayılmış ve ortalamaları alınmıştır.

3.3.4 Yan dal açısı (derece)

Hasattan hemen önce her parselden boyları ölçülen beş bitkinin yan dalları ile ana sapın arasındaki açı derece (°) cinsinden açıölçer ile ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

3.3.5 Ana sap çapı (mm)

Bitkiler çiçeklenmeden sonra, vegetatif dönemleri bittiğinde ve ana sapta plasmolis başlamadan önce boyları ölçülen beş bitkinin ana saplarının çapı toprak yüzeyinden yaklaşık beş cm yükseklikten mm olarak kumpas ile ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

3.3.6 Ana sap yaş ağırlığı (g/bitki)

Bitkiler çiçeklenmeden sonra, vegetatif dönemleri bittikten hemen sonra, boyları ölçülen beş bitkinin, boy ve ana sap çapı açısından benzer olan beş bitki seçilip ve toprak yüzeyinde biçilip, ardından yapraklar ve yan dalları ayırdıktan sonra hassas terazi ile gram cinsinden tartılarak ortalamaları alınmıştır.

3.3.7 Ana sap kuru ağırlığı (g/bitki)

Ana sap yaş ağırlıkları tartılmış olan örnekler 105 °C etüvde 48 saat süreyle kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları gram olarak tespit edilmiştir.

3.3.8 Yaprak uzunluğu (cm)

Her parselde boyları ölçülen beş bitkinin her birinden alınan beş olgun yaprağın uzunluğu cetvel ile cm olarak ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

3.3.9 Yaprak eni (cm)

Her parselde boyları ölçülen beş bitkinin her birinden alınan beş olgun yaprağın eni cetvel ile cm olarak ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

3.3.10 Yaprak sapı eni (petiyol) (cm)

Ana sap yaş ağırlığı tespiti için seçilmiş olan bitkilerden alınan beşer olgun yaprakların sap eni cetvel ile cm olarak ölçülüp ortalamaları alınmıştır.

3.3.11 Yaprak sayısı (adet)

Çiçeklenmeden sonra boyları ölçülmüş olan beş bitkide olgun yapraklar adet olarak sayılarak ortalamaları alınmıştır.

3.3.12 Yaş yaprak ağırlığı (g)

Ana sap yaş ağırlığı tespiti için seçilmiş olan beş bitkinin yaprakları hassas terazi ile tartılarak ortalamaları gram cinsinden hesaplanmıştır.

3.3.13 Kuru yaprak ağırlığı (g)

Yaş ağırlıkları tartılmış olan yapraklar, 105 °C etüvde 48 saat süreyle

kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları hassas terazi ile tartılmış ve ortalamaları gram olarak tespit edilmiştir

3.3.14 Yaprak açısı (derece)

Hasattan hemen önce her parselden boyları ölçülen beş bitkinin yaprakları ile ana sapın arasındaki açı derece (°) olarak açıölçer ile ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

3.3.15 Çiçek sayısı (adet)

Hasat zamanında seçilmiş olan beş bitkinin olgun ve ekonomik çiçekleri hasat edilerek sayılmış ve hasat sonunda her bitki için çiçek sayısı hesaplanıp ortalamaları alınmıştır.

3.3.16 Ana tabla çapı (mm)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin, ana saplarının ucunda bulunan çiçeklerin tohumları olgunlaştıktan sonra hasat edilmiş ve çapları mm olarak kumpas ile ölçülüp ortalamaları alınmıştır.

3.3.17 Ana tabla ağırlığı (g)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin, ana saplarının ucunda bulunan çiçekleri tohumları olgunlaştıktan sonra hasat edilmiş ve hassas terazi ile ağırlıkları gram olarak tartılarak ortalamaları alınmıştır.

3.3.18 Bitki başına çiçek ağırlığı (g)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin çiçekleri tohumları olgunlaştıkça hasat edilmiş ve hassas terazi ile ağırlıkları gram olarak tartılıp ortalamaları alınmıştır.

3.3.19 Ana tabla tohum sayısı (adet)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin, ana saplarının ucunda bulunan çiçeklerin ağırlıklarını tarttıktan sonra her çiçeğin içinde bulunan olgun tohumlar sayılıp, ortalamaları alınmıştır.

3.3.20 Bitki başına tohum sayısı (adet/bitki)

Her parselden seçilmiş olan beşer bitkinin tohumları sayılıp ortalamaları alınmış ve bitki başına tohum sayısı belirlenmiştir.

3.3.21 Ana tabla tohum ağırlığı (g/çiçek)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin ana saplarının ucunda bulunan çiçekleri, tohumları olgunlaştıktan sonra hasat edilmiş ve onlara ait tohumlar ayrılarak ağırlıkları hassas terazi ile gram olarak tartılmış ve ortalamaları alınmıştır

3.3.22 Bitki başına tohum verimi (g/bitki)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin çiçekleri tohumları olgunlaştıkça hasat edilmiş, onlara ait tohumlar ayrılarak hassas terazi ile tohumların ağırlıkları gram olarak tartılıp ortalamaları alınmıştır

3.3.23 Bin dane ağırlığı (g)

Her parselden elde edilen tohumlar 4×100 olacak şekilde tartılarak 1000 dane ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.3.24 Biyolojik verim (g/bitki)

Her parselden çiçekleri hasat edilmiş olan bitkilerin, toprak üstü aksamaları onlara ait olan çiçekler ile birlikte tartılarak biyolojik verimi hesaplanmıştır.

3.3.25 Çiçekte diken uzunluğu (cm)

Boyları ölçülmüş olan beş bitkinin, ana saplarının ucunda bulunan çiçeklerin diken boyu uzunlukları kumpas ile cm cinsinden ölçülmüştür.

3.3.26 Dane verimi (kg/da)

Her parselden elde edilen dane miktarı oran ve orantılı olarak bir dekar için hesaplanmaları yapılmış ve bir dekara düşen verim kilogram cinsinden elde edilmiştir.

3.3.27 Hasat İndeksi (%)

Dane verimin biyolojik verime oranı $\times 100$ formülü ile her popülasyon için hesaplanmıştır.

3.4 Fitokimyasal Analizler

3.4.1 Silymarin Oranı (%) Belirlenmesi İçin Ekstraksiyon Yöntemi

Silymarin ekstraksiyonu iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Doğadan toplanan ve iki senelik tarla denemelerinden elde edilen her popülasyonun ve Budakalaszi çeşidinin tohumları, toplam 54 örnek olarak, PREMIER PRG 259 modelli kahve öğütme makinası ile öğütölüp toz haline getirilmiştir. Elde edilen tohum tozlarının nem oranları hesaplanmış ve nemsiz ağırlık olarak 10 gram tartılıp (± 10 mg) filtre kâğıtları ile ambalajlanmışlardır. Silymarin ekstraksiyonunun ilk aşaması olarak, sabit yağları uzaklaştırma amacı ile örnekler soksolet apareyinde 12 saat boyunca n-hegzan çözeltisi ile yıkanmışlardır. Bu aşama bittikten sonra yağı alınmış örnekler 45°C etüvde 48 saat süre ile kurutulup ve ağırlıkları tartılmıştır.

Ekstraksiyonun devamında ve silymarin ekstraksiyonun ikinci aşaması olarak, yağı alınmış örnekler soksolet apareyinde 12 saat boyunca metanol çözeltisi ile yıkanmışlardır. Bu aşamanın sonunda da silymarini alınmış örnekler

ve geriye kalan örnek kütlesi 65°C etüvde 72 saat süre ile kurutulmuş ve ağırlıkları tartılmıştır. Silymarin miktarı elde edilmiş ağırlıkların yüzde oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

A: Nemsiz örnek ağırlığı (g)

B: Yağı alınmış örnek ağırlığı (g)

C: Yağ ve silymarini alınmış örnek ağırlığı (g)

D: Yağı alınmış örnek oranı (%)

E: Yağ oranı (%)

F: Yağ ve silymarini alınmış örnek oranı (%)

G: Yağ ve silymarinin birlikte oranı (%)

H: Silymarin oranı (%)

$$B/(A) \times 100 = D$$

$$A - D = E$$

$$C/A \times 100 = F$$

$$A - F = G$$

$$G - E = H$$

Ekstraksiyonu yapılmış olan silymarinin metanol çözeltisinden ayırt edilebilmesi için rotary evaporator apareyi kullanılarak metanol 50°C 'ın altında silymarinden ayrılmış ve silymarin sarı toz halinde elde edilmiştir.

3.4.2 Ekstraksiyon validasyonu

3.4.2.1 Ekstraksiyon kaynaklı kirlilik olasılığı

Ekstraksiyon sırasında istenmeyen yabancı maddelerin örneklerle karışması ve çözgenlere bağlı istenmeyen maddelerin gözlenmesi olasılığı göz önüne alınarak kör ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.2 Ekstraksiyonun tekrarlanabilirliği

Yapılan 54 ekstraksiyonun karşılaştırılabilirliğini sınamak amacıyla aynı bitki örnekleri ile üç farklı zamanda tekrar ekstraksiyon uygulanmıştır.

3.4.2.3 Ekstraksiyonda geri kazanım

Geri kazanım çalışmaları; drog üzerine belirli miktarda standart ilave edildikten sonra yapılan ekstraksiyon ile uygulanmıştır. Geri kazanım çalışması ilave ettiğimiz maddenin ne kadarını analizde görebildiğimizi belirlemek amacıyla yapılmıştır. Sonuçlar standart konmadan yapılan ekstraksiyon analizi ile standartlı örneğin analizindeki alan artışına bağlı olarak hesaplanmıştır.

3.5 Moleküler Analizler

3.5.1 DNA izolasyonu

Doğadan toplanmış olan Meryemana dikenli popülasyonları ve Budakalaszi çeşidinin tohumları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait seralarında, elenmiş toprak konulmuş olan 15×15 cm ebadındaki saksılara ekilmiştir. Tohumlar kontrollü koşullarda yetiştirilmiş ve çimlendirme için uygun toprak nemi sulama ile sağlanmıştır. Tohumlar çimlendikten sonra, genç gerçek yapraklardan DNA izolasyonu için yaprak örneği alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri eppendorf tüplere konmuş ve eppendorf tüpler sıvı azot içerisinde bekletilmiştir. Örnekler daha sonra DNA izolasyonu yapılana kadar -85°C derin dondurucuda saklanmışlardır.

3.5.2 DNA izolasyonu için örnek öğütme aşaması

İçerisinde yaprak örnekleri bulunan eppendorf tüplerin içerisine üç adet bilye ilave edilmiştir. Ardından Technogen marka doku parçalama cihazında parçalanarak ince toz haline getirilmişlerdir.

3.5.3 DNA izolasyonunda kullanılan yöntem

Genomik DNA izolasyonu için Healey et al., (2014) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin detayları aşağıda sunulmuştur:

3.5.3.1 DNA izolasyonu tampon çözeltisinin hazırlaması (500 ml)

10 g CTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide) UP suda çözdükten sonra üzerine 50 ml 1 M Tris- HCl (7.5 pH), 25 ml 0,5 M EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate) ve 150 ml 5 M NaCl eklenmiştir. Karışım 500 ml'ye kadar UP su ile tamamlanmıştır.

3.5.3.2 DNA izolasyonunda kullanılan protokol aşamaları (Healey et al., 2014)

1. 0.15 g taze ve genç bitki yaprağı örneğini sıvı azot içerisine koyduktan sonra parçalanıp ve toz haline getirilmiştir.
2. Extraction bufferı kullanmadan önce her 1 ml buffer için 3 µl β-merkaptoetanol eklenip ve 65 °C'de bekletilmiştir.
3. Parçalanmış örneklerin üzerine 1 ml extraction buffer eklenmiş ve örnekler buffer içerisinde homojen bir şekilde dağılım amacı ile vortekslenmiştir.
4. Örnek ve buffer karışımı 65 °C'de 60 dakika boyunca inkübe edilmiş ve her 10 dakikada bir altüst edilmiştir.
5. Ardından 8000 rpm'de beş dakika santrifüj yapılmıştır.
6. Üst fazı temiz tüpe aktarılmıştır.
7. Eşit hacimde chloroform:isoamilalkol (24:1) ilave edilmiştir.
8. Beş dakika altüst ettikten sonra 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır.
9. Üst fazı temiz tüpe aktarılmış ve 10 µl RNase eklenmiştir.
10. Örnekler 37 °C'da 15 dakika inkübe edilip ve arada altüst yapılmıştır.
11. İnkübasyondan sonra eşit hacimde chloroform:isoamilalkol (24:1) ilave edilip ve beş dakika boyunca altüst edilmiştir.
12. 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj yaptıktan sonra üst fazı temiz tüpe aktarılmıştır.
13. Hacmin yarısı kadar 5 M NaCl ilave edip altüst ettikten sonra aynı örneği iki ependorfa eşit hacimde bölünmüştür.
14. Üzerine üç hacim kadar %95 ETOH ilave edilmiş ve DNA iplikleri görünene kadar karıştırılmıştır.
15. Ardında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıp ve üst faz atılmıştır.

16. İzolasyon işleminin devamında ependorfun dibine çökmüş olan DNA kütlelerinin üzerine 1000 µl %70 ETOH eklenmiştir ve ardında 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmış ve üst faz atılmıştır.
17. Ependorf'un dibinde kalan DNA'yı speedvak cihazında kurutup ve üzerine 100 µl TE bufferi eklenmiştir.
18. Çözündükten sonra aynı numaralı DNA örnekleri birleştirip ve PCR analizlerine kadar -85 °C'da saklanmıştır.

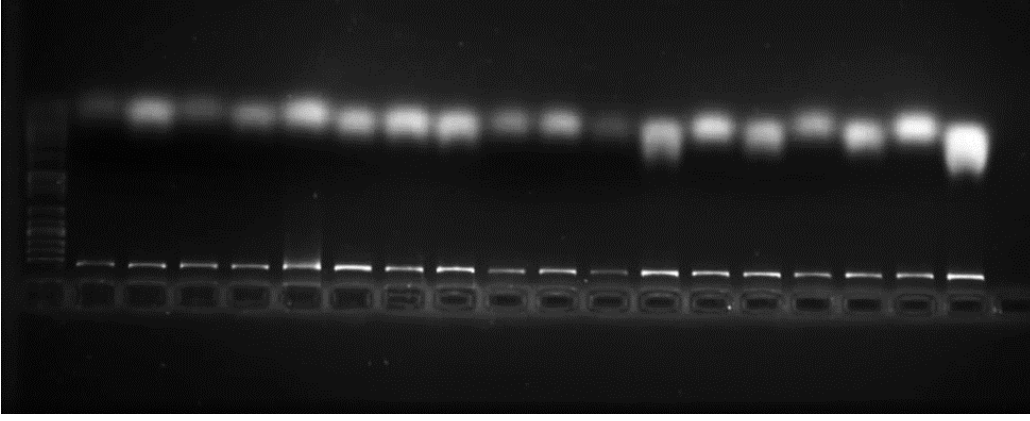
3.5.4 İzolasyonu yapılmış olan DNA'ların konsantrasyon ve kalite belirlenmesi

3.5.4.1 DNA konsantrasyonunun Nano Drop ile ölçülmesi

İzolasyonu yapılmış olan DNA'ların konsantrasyonu ve kalitesinin belirlenmesi Thermo Scientific NanoDrop 1000 spectrophotometer cihazında yapılmıştır. DNA konsantrasyonları belirlenmiş ve kalite açısından 260/280 nm dalga boylarında 1,8- 2 olanlar seçilip PCR analizine tabi tutulmuştur.

3.5.4.2. DNA saflık analizi için agaroz jel elektroforezi

% 1'lik agaroz jeli hazırlamak için, 1g agaroz tartılıp 1X Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) tamponu içerisinde mikro dalga fırında kaynatılmış, daha sonra jel kabına dökülmüş ve üzerine jel sisteminin tıraşı yerleştirilmiştir. İzolasyonu yapılmış DNA çözeltisinden 2 µl alınmış, üzerlerine 8 µl ultra saf su (UP) ve 2µl brom fenol blue ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışım mikropipet yardımıyla kuyucuklara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa 2 µl 1kb (DNA ladder, Fermentas GeneRuler TM) koyulmuştur. Elektroforez işlemi 60 Volt gerilim ve 400 mA akımla iki saat süre ile yürütülmüştür. Jel, 100 ml agaroz solüsyonuna 10µl olacak şekilde SafeView™ Classic (G108, ABM) boyama maddesi eklenmiştir. Jelde ayrımlanan DNA ve PCR örnekleri G-box (SYNGENE, USA) görüntüleme sistemi ile Ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenerek bilgisayara aktarılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. DNA örneklerinin saflıklarının belirlendiği agaroz jel elektroforezi görüntüsü

3.5.5 DNA seyreltilmesi

Konsantrasyonu belirlenmiş olan DNA'lar oran ve orantılı olarak saf (UP) su ile 5 ng/μl'ye seyreltilmiştir.

3.5.6 Gradient PCR

Primerlerin bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla Gradient PCR iki Meryemana dikenli bireyinde uygulanmıştır. Primerin bağlanma sıcaklığı arası 42°C - 65°C olacak şekilde PCR uygulanmaktadır. Literatürden elde edilen 29 Primer kullanılmıştır (Kalendar et al., 2010). Gradient PCR Thermal Cycler cihazında Çizelge 3.5'de belirtildiği şekilde reaksiyona tabi tutulmuştur. Gradient PCR analizi için kullanılan primerlerin isimleri ve sekans bilgileri Çizelge 3.6'da yer almaktadır.

Çizelge 3.5 Gradient PCR işlemi için reaksiyon basamakları, süresi ve sıcaklıkları

Reaksiyon basamağı	Reaksiyon sıcaklığı	Reaksiyon süresi
1	94°C	30 sn
2	94°C	25 sn
3	42°C - 65°C	45 sn
4	72°C	1 dk
5	2'den 4'e kadar	35 kez
6	72°C	5 dk
7	4°C	∞

3.5.7 Primer seçimi

Meryemana dikenli popülasyonları arasında olan moleküler farklılıkların belirlenmesi için PCR deneyine alınması sonucunda 29 primer arasından belirgin ve polimorfizm gösteren 13 primer seçilmiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.6. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarında primer seçimi amacıyla kullanılan primerler

No.	Primer	Sekans	Bağlanma sıcaklığı (Kalendar et al., 2010)	Optimize bağlanma sıcaklığı
1	2074	GCTCTGATACCA	49.6	53
2	2075	CTCATGATGCCA	51.2	53
3	2080	CAGACGGCGCCA	63.3	47
4	2085	ATGCCGATACCA	52.8	55
5	2087	GCAATGGAACCA	52.5	48
6	2222	ACTTGGATGCCGATACCA	53	47
7	2226	CGGTGACCTTTGATACCA	53.1	50
8	2229	CGACCTGTTCTGATACCA	52.5	48
9	2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	55.4	43
10	2237	CCCCTACCTGGCGTGCCA	55	65
11	2244	GGAAGGCTCTGATTACCA	49	60
12	2249	AACCGACCTCTGATACCA	51	47
13	2252	TCATGGCTCATGATACCA	51.6	45
14	2270	ACCTGGCGTGCCA	65	47
15	2272	GGCTCAGATGCCA	55	53
16	2273	GCTCATCATGCCA	56.5	45
17	2277	GGCGATGATACCA	52	47
18	2298	AGAAGAGCTCTGATACCA	60	45
19	2380	CAACCTGATCCA	50.5	50
20	2381	GTCCATCTTCCA	50	55
21	2382	TGTTGGCTTCCA	50.5	55
22	2389	ACATCCTTCCCA	56.4	48
23	2391	ATCTGTCAGCCA	52.6	45
24	2392	TAGATGGTGCCA	52.2	48
25	2393	TACGGTACGCCA	51	43
26	2394	GAGCCTAGGCCA	56.5	57
27	2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	52.8	60
28	2401	AGTTAAGCTTTGATACCA	53	53
29	2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	61	47

Çizelge 3.7. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarının moleküler analizlerinde seçilmiş olan primerler

No.	Primer	Sekans	Bağlanma sıcaklığı (Kalendar et al., 2010)	Optimize bağlanma sıcaklığı
1	2074	GCTCTGATACCA	49.6	53
2	2075	CTCATGATGCCA	51.2	53
3	2087	GCAATGGAACCA	52.5	48
4	2270	ACCTGGCGTGCCA	65	47
5	2272	GGCTCAGATGCCA	55	53
6	2380	CAACCTGATCCA	50.5	50
7	2389	ACATCCTTCCCA	56.4	48
8	2391	ATCTGTCAGCCA	52.6	45
9	2392	TAGATGGTGCCA	52.2	48
10	2394	GAGCCTAGGCCA	56.5	57
11	2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	52.8	60
12	2401	AGTTAAGCTTTGATACCA	53	53
13	2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	61	47

3.5.8 PCR reaksiyon karışımı

PCR reaksiyon karışımı, 1.5 µl 10X buffer (ABM), 2.0 µl 25 mM MgCl₂, 1.2 µl dNTPs, 1 µl primer, 0.2 µl Taq Polimeraz, 3.1 µl UP su ve 20 ng µl⁻¹ yoğunluğundaki DNA örnekleri kullanılarak toplam 15 µl hacimde hazırlanmıştır.

3.5.9 PCR koşulları

Kullandığımız primerlere uygun olan DNA'daki sekansların çoğaltılması için Kalendar et al., (2010) tarafından bildirilen reaksiyon koşulları optimize edilerek PCR uygulanmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Meryemana dikenli bitkisi popülasyonlarının moleküler analizlerinde kullanılan PCR koşulları

Sıra	Aşama	Sıcaklık (°C)	Tekrarlanma Sayısı	Süre (sn)
1	Denatürasyon	94	1	30
2	Denatürasyonu	94	35 (İkinci aşamadan dördüncüne kadar)	25
3	Bağlanma	Primer Bağlanma sıcaklığı		45
4	Uzama	72		60
5	Son Uzama	72	1	300
6	Bekleme	4	-	Zamansız

3.5.10 Elektroforez

PTC-225 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Nevada, USA) cihazından çıkan (PCR) DNA ürünleri yatay jel elektroforez cihazında yürütülmüştür. Yüklenden önce 2 µl brom fenol blue boyası ile boyanmıştır. %2'lik TAE agaroz jeli hazırlanırken jelin boyanması için 100 ml agaroz solüsyonu başına 10µl olacak şekilde SafeView™ Classic (G108, ABM) eklendikten sonra elektroforez kasasına dökülerek örnek sayısına uygun taraklar yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra 1X TAE tamponu bulunan kasa içerisine yerleştirilmiştir. PCR tüplerindeki amplifikasyon ürünü ve boyanın karışması sağlandıktan sonra örnekler kuyulara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa 2 µl 100 bp plus (DNA ladder, Thermo GeneRuler™) koyulmuştur. Elektroforez işlemi 120 volt'ta 150 dakika süre ile gerçekleştirilmiştir.

3.5.11 Skorlama

Agaroz jel elektroforez işlemi sonucunda elde edilen görüntüler, çalışmada kullanılan iPBS markör primerlerin göstermiş olduğu polimorfik bantlar açısından değerlendirilerek, her bir örnek için bant bulunduranlar (1) ve bant bulundurmayanlar (0) olarak skorlanarak, elde edilen veriler Microsoft Office Excel dosyasında kayıt edilmiştir.

3.5.12 PIC değerlerinin hesaplanması

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC), bir popülasyondaki polimorfizmi belirlemek amacıyla kullanılan markörün değerini ifade etmektedir. PIC değeri polimorfik allellerin sayısına ve frekanslarının dağılımına bağlıdır ve her bir markörün polimorfizm oranı ile ilgili ayırt etme gücünü ifade etmektedir. Değerler 0-1 arasındadır (Botstein et al., 1980; Shete et al., 2000). PIC değeri her bir primer için formülde belirtildiği şekilde hesaplanmıştır. Sayı 1'e yaklaştıkça ayırt etme gücü artar (Anderson J.A, 1993). Pic değerleri Smith et al., 1997 yöntemine göre hesaplanmıştır.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2$$

3.5.13 Genetik yakınlığın belirlenmesi

Popülasyonlar arasındaki genetik benzerlik değerleri NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.02, Exeter Software, Setauket, N.Y., USA) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (Rohlf, 2000). iPBS markör skorlanması sonucu elde edilen 0 ve 1 değerlerini text dosyasına dönüştürülmüştür ve Matriks oluşturularak genetik benzerlik katsayısı Jaccard (1908) yöntemine göre hesaplanmıştır. Bireyler arasındaki benzerlik indeksleri hesaplanmıştır. Ayrıca “Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average” (UPGMA) kümeleme analiziyle Jaccard katsayısı kullanılarak bir benzerlik matriksi oluşturulmuş ve dendrogram yoluyla gruplar belirlenmiştir. Popülasyonları kıyasladığımızda bu değer 0'a yaklaşması benzerliklerinin az olduğunu; 1'e yaklaşması ise genetik olarak yakın olduklarını

göstermektedir.

3.5.14 Popülasyon yapısının belirlenmesi

Popülasyonun yapısının belirlenmesi için STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) programı kullanılmıştır. STRUCTURE programı ayırt edici allel frekansları ile popülasyondaki grupları belirlemektedir. Her lokustaki allel frekansları ile tanımlanan sayı; popülasyondaki grup sayısı olarak kabul edilir. Bu sayı K değeri ile ifade edilmektedir. En uygun K değeri için 1-10 arasında hesaplama yapılmıştır. Burn-in period 10.000 ve burn-in length için 10.000 tekrarla her bir K değeri için 10 tekrar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar STRUCTURE HARVESTER programı kullanılarak analiz edilmiş ve her bir K değeri için, en yüksek olasılık gösteren değer kabul edilerek ΔK hesaplanmıştır. ΔK -K grafiği elde edilerek, popülasyonun oluşturduğu grup sayısı belirlenmiştir.

3.6. Agro-Morfolojik ve Fitokimyasal Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmadan elde edilen agro-morfolojik ve fitokimyasal özelliklerin sonuçları SPSS Ver. 22 ve STATISTICA Ver. 12 paket programlarında değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Agro-Morfolojik Karakterler

Bu başlık altında meryemana dikenini (*Silybum marianum* L. Gaertn.) bitkisine ait Türkiye ve İran orijinli popülasyonlar ile tescilli çeşit Budakalaszinin bitki boyu, yan dal boyu, yan dal sayısı, yan dal açısı, ana sap çapı, ana sap yaş ağırlığı, ana sap kuru ağırlığı, yaprak uzunluğu, yaprak eni, yaprak sapı eni, yaprak sayısı, yaş yaprak ağırlığı, kuru yaprak ağırlığı, yaprak açısı, çiçek sayısı, ana tabla çapı, ana tabla ağırlığı, bitki başına çiçek ağırlığı, ana tabla tohum sayısı, bitki başına tohum sayısı, ana tabla tohum ağırlığı, bitki başına verim, bin dane ağırlığı, biyolojik verim, çiçekte diken uzunluğu, dane verimi ve hasat indeksi gibi agro- morfolojik özellikleri incelenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde popülasyonlar arasında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

4.1.1 Bitki boyu

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonlar ile Budakalaszi çeşidi bitki boyu değerleri yönünden karşılaştırılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, bitki boyu ortalamaları bakımından istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında bitki boyu değerleri 123.7- 181.7 cm arasında değişmiş ve en yüksek bitki boyuna Ahvaz popülasyonu (181.7 cm) ulaşmıştır. En düşük bitki boyu değerleri ise Zanzan (123.7 cm) ve Cumaovası (127.6 cm) popülasyonlarında saptanmıştır. Ayrıca 2015 yılında bitki boyu değerleri 112.4- 177.4 cm arasında değişmiş ve en yüksek bitki boyuna Cumaovası popülasyonunda (177.4 cm) ulaşılmıştır. En düşük bitki boyu değerleri ise Ankara (112.4 cm), Zanzan (113.5 cm), Damavand (113.6 cm), Ardabil (115.8 cm) ve Darram a (117.9 cm) popülasyonlarında saptanmıştır. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek bitki boyu Ahvaz popülasyonunda 2014 yılında (181.7 cm) ve en düşük Ankara (112.4 cm), Zanzan (113.5 cm), Damavand (113.6 cm), Ardabil (115.8 cm) ve Darram a

Çizelge 4.2. Meryemana dikenini popülasyonlarına ait bitki boyu (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	181.7 ^a	165.5 ^{bc}	173.6
	Ardabil	129.2 ^{n-q}	115.8 ^{uv}	122.5
	Damavand	133.6 ^{m-o}	113.6 ^v	123.6
	Darram <u>a</u>	143.7 ^{g-j}	117.9 ^{t-v}	130.8
	Darram <u>b</u>	145.4 ^{f-i}	122.5 ^{r-t}	133.9
	Firozabad	151.1 ^e	120.2 ^{s-u}	135.6
	Kermanshah	148.4 ^{e-h}	128.1 ^{o-q}	138.2
	Roodbar	132.4 ^{m-p}	139.4 ^{j-l}	135.9
	Sari	134.2 ^{l-n}	132.3 ^{m-p}	133.3
	Shayban	161.4 ^{cd}	145.8 ^{e-i}	153.6
	Zanzan	123.7 ^{q-s}	113.5 ^v	118.6
Türkiye	Ankara	151.1 ^e	112.4 ^v	131.7
	Aydın	141.4 ^{i-k}	149.5 ^{ef}	145.4
	Bornova	149.4 ^{e-g}	165.3 ^c	157.3
	Cumaovası	127.6 ^{p-r}	177.4 ^a	152.5
	Manisa	133.7 ^{l-o}	157.6 ^d	145.7
	Menemen	143.0 ^{h-k}	171.0 ^b	157.0
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	137.5 ^{k-m}	142.6 ^{i-k}	140.0
Genel Ort.		142.7	138.3	140.5

(117.9 cm) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Meryemana dikenini popülasyonları üzerine yapılmış olan önceki çalışmalara bakıldığında, popülasyonlar arasında bitki boyu özelliği açısından istatistiki olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Kolacova and Ruzickova (2013)'nin iki farklı lokasyonda yürüttükleri çalışmada 15 farklı genetik kaynaklı olan meryemana dikenini popülasyonları arasında bitki boyu bakımından farklılıklar olduğu saptanmıştır. Ayrıca aynı genetik kaynaklı olan bitkiler farklı lokasyonlarda yetiştirildiğinde aralarında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, iki farklı lokasyonda bitki boyları 30.88-105.80 cm ve 112.80- 173.00 cm aralığında değiştiği saptanmıştır.

Kolacova and Ruzickova (2013), araştırmalarının sonuçlarını bizim elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırdığımızda, bitki boyu ortalama değerleri açısından birinci lokasyondan elde ettikleri sonuçlara (30.88-105.80 cm) göre en yüksek bitki boyu ortalama değeri (105.80 cm) bizim elde ettiğimiz en düşük bitki boyu ortalama değerinin (112.4 cm) altında olduğu izlenmektedir. Ayrıca ikinci lokasyondan elde ettikleri bitki boyu ortalama değerleri (112.80-173.00 cm) bizim elde ettiğimiz değerlerin içinde yer aldığı görülmektedir.

Kolacova et al. (2015), meryemana dikeninin 15 popülasyonunda büyüme dinamikleri ve morfolojik özellikleri üzerine yaptıkları üç yıllık (2010-2013) araştırmada, deneme yıllarına bakıldığında denemenin ilk yılında, popülasyonlar arasında bitki boyu ortalama değerleri 61-121 cm arasında değişiklik göstermiştir. Elde edilen bu değerler, İzmir koşullarında yürüttüğümüz araştırmadan elde edilen değerlere göre, daha düşük olduğu görülmektedir ve en yüksek bitki boyu ortalama değerleri bizim yürüttüğümüz denemenin birinci yılında elde edilen en düşük değerinin altında olduğu izlenmektedir. Ayrıca bu değerleri denememizin ikinci yılından elde edilen değerlerle karşılaştırdığımızda, en yüksek bitki boyları bizim denemeden elde edilen en düşük bitki boyları grupları arasında yer aldığı görülmektedir. Kolacova et al. (2015), araştırmalarının ikinci yılında bitki boyları 71-98 cm arasında bulunmuş ve bu değerler bizim araştırmanın her iki yılından elde edilen değerlerin altında olduğu görülmüştür, Denemenin son yılında ise bitki boyu ortalama değerleri 126-173 cm arasında farklılık göstermiştir ve bu değerler bizim denemeden elde edilen sonuçların arasında yer almaktadır.

Gresta et. al. (2007), yaptıkları araştırmada, İtalya'nın güneyinde üç farklı bölgeye ait *Silybum marianum* L. popülasyonlarını inceledikleri araştırma sonuçlarına göre, popülasyonlar arasında bitki boyu açısından farklılık olduğunu

saptamışlar ve bitki boyu ortalama değerleri 106.7-146.9 cm arasında belirlenmiştir. Bu araştırmada bizim araştırma sonuçlarına göre daha kısa boylu bitkilerin bulunduğu, diğer taraftanda en yüksek bitki boyu ortalama değerleri bizim incelediğimiz değerlerin içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir.

Shokrpour et al., (2011), meryemana dikeninin 25 genotipinde (23 İran orijinli ekotip ve iki tescilli çeşit), bazı agronomik özellikleri incelediklerinde, bitki boyu ortalama değerlerini 129.27-166.48 cm aralığında saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim araştırmada elde edilen bitki boyu ortalama değerleri ile uyum sağlamakta ve elde ettiğimiz sonuçların sınırları içerisinde yer almaktadır.

4.1.2 Yan dal boyu (cm)

Bu çalışmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ile tescilli çeşit olan Budakalaszi yan dal boyu değerleri yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yan dal boyu ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl×Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında yan dal boyu değerleri 39.3- 112.3 cm arasında değişmiş ve en yüksek yan dal boyu değerine Ardabil (112.3), Sari (107.9) ve Shayban (106.8 cm) popülasyonlarında ulaşılmıştır. En düşük yan dal boyu değerleri ise Manisa (39.3 cm) ve Cumaovası (46.1 cm) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında yan dal boyu değerleri 59.4- 93.3 cm arasında değişmiş ve en yüksek yan dal boyu değeri Shayban (93.3 cm) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yan dal boyu değerleri ise Aydın (59.4 cm) ve Ankara (60.2 cm) popülasyonlarında belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek yan dal boyu değeri Ardabil (112.3 cm), Sari (107.9 cm) ve Shayban (106.8 cm) popülasyonlarında 2014 yılında ve en düşük ise Manisa (39.3 cm) ve Cumaovası (46.1 cm) popülasyonlarında yine 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yan dal boyu (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	97.1 ^b	75.0 ^{g-m}	86.0
	Ardabil	112.3 ^a	86.7 ^{ce}	99.5
	Damavand	67.5 ^{m-s}	63.9 ^{n-t}	65.7
	Darram <u>a</u>	82.7 ^{eg}	75.6 ^{g-l}	79.2
	Darram <u>b</u>	85.2 ^{df}	77.0 ^{g-j}	81.1
	Firozabad	70.0 ^{j-o}	61.6 ^{p-t}	65.8
	Kermanshah	85.2 ^{cf}	86.2 ^{cf}	85.7
	Roodbar	76.9 ^{g-j}	78.6 ^{f-i}	77.7
	Sari	107.9 ^a	71.0 ⁱ⁻ⁿ	89.5
	Shayban	106.8 ^a	93.3 ^{bc}	100.0
	Zanjan	62.8 ^{o-t}	69.4 ^{j-p}	66.1
Türkiye	Ankara	55.8 ^t	60.2 ^{r-t}	58.0
	Aydın	64.5 ^{n-s}	59.4 st	62.0
	Bornova	71.4 ⁱ⁻ⁿ	67.8 ^{l-r}	69.6
	Cumaovası	46.1 ^u	68.4 ^{k-q}	57.3
	Manisa	39.3 ^u	60.3 ^{q-t}	49.8
	Menemen	76.4 ^{g-k}	81.7 ^{e-h}	79.0
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	92.2 ^{bd}	74.0 ^{h-m}	83.1
Genel Ort.		77.8	72.8	75.3

Yapılan literatür çalışmalarına göre Gresta et al., 2007, İtalya'nın üç farklı lokasyonuna ait meryemana dikenli popülasyonları üzerine yaptıkları araştırma sonucunda bu bitkilerde yan dal boyu ortalama değerlerini 21-30.6 cm arasında saptamışlardır. Ayrıca lokasyonlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığını ortaya koymuşlardır. Gresta et al., (2007)'in çalışmalarında elde edilen sonuçlar İzmir koşullarında yürütülmüş olan araştırmamızın verileri ile karşılaştırıldığında, bizim her iki seneye ait olan ortalama değerlerinden daha düşük olduğu izlenmektedir.

4.1.3 Yan dal sayısı (adet/bitki)

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, yan dal sayısı (adet/bitki) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yan dal sayısı (adet/bitki) ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl×Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yan dal sayısı değerleri bitki başına 6.2- 24.3 adet arasında değişmiş ve en yüksek bitki başına yan dal sayısı değeri 2014 yılında, Ardabil (24.3 adet) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük bitki başına yan dal sayısı değeri ise Manisa (6.2 adet) ve Kermanshah (6.5 adet) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında bitki

başına yan dal sayısı değerleri 4.3- 13 adet arasında değişmiş ve en yüksek bitki başına yan dal sayısı değerine Ardabil (13.0 adet) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük bitki başına yan dal sayısı değerleri ise Ankara popülasyonunda (4.3 adet) belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en fazla dal sayısına Ardabil popülasyonu (24.3 adet/bitki) 2014 yılında sahip olmuş ve en düşük yan dal sayısını ise Ankara (4.3 adet/bitki) popülasyonu 2015 yılında vermiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yan dal sayısı (adet/bitki) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2014-2015	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	10.4 ^e	8.0 ^j	9.2
	Ardabil	24.3 ^a	13.0 ^c	18.6
	Damavand	7.8 ^{jk}	6.2 ^{no}	7.0
	Darram <u>a</u>	12.8 ^c	11.3 ^d	12.0
	Darram <u>b</u>	13.1 ^{bc}	11.4 ^d	12.3
	Firozabad	11.8 ^d	5.3 ^q	8.6
	Kermanshah	6.5 ^{m-o}	6.3 ^{no}	6.4
	Roodbar	9.2 ^{fg}	7.2 ^{kl}	8.2
	Sari	8.5 ^{h-j}	6.7 ^{l-n}	7.6
	Shayban	12.9 ^c	9.1 ^{gh}	11.0
	Zanjan	8.9 ^{g-i}	5.5 ^{pq}	7.2
Türkiye	Ankara	8.9 ^{g-i}	4.3 ^r	6.6
	Aydın	7.2 ^{k-m}	6.0 ^{o-q}	6.6
	Bornova	9.8 ^{et}	7.1 ^{k-m}	8.5
	Cumaovası	8.4 ^{ij}	9.3 ^{fg}	8.8
	Manisa	6.2 ^{n-p}	6.2 ^{no}	6.2
	Menemen	13.4 ^{bc}	7.1 ^{lm}	10.2
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	13.7 ^b	6.4 ^{no}	10.1
Genel Ort.		10.8	7.6	9.2

Kolacova and Ruzickova (2013), meryemana dikeninin 15 farklı popülasyon üzerine yaptıkları lokasyon denemesinde, yan dal sayısı ortalama değerleri açısından popülasyonlar ve lokasyonlar (2.89-23.80 adet/bitki ve 9.20-23.60 adet/bitki, sırayla birinci ve ikinci lokasyon) arasında farklılık olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim araştırmadan elde edilen sonuçlarla uyum sağlamaktadır fakat İzmir koşullarında yürüttüğümüz denemenin birinci (2014) yılında Ardabil popülasyonunun daha fazla yan dal sayısına (24.3 adet/bitki) ulaştığı saptanmıştır.

Gresta et. al. (2007), yaptıkları araştırmada, üç farklı bölgeye ait *Silybum marianum* L. popülasyonlarını inceledikleri araştırma sonuçlarına göre, popülasyonlar arasında yan dal sayısı açısından farklılık olduğunu belirlemişlerdir. Yan dal sayısı ortalama değerleri 6.3-7.9 adet/bitki arasında belirlenmiştir. Bu araştırmanın sonuçları bizim araştırmanın sonuçlarıyla uyum sağlamakta ve elde ettikleri sonuçlar İzmir koşullarında elde edilen iki senelik sonuçların içerisinde yer almaktadır.

4.1.4 Yan dal açısı (ana sap ve yan dal arasındaki aksil derecesi)

Araştırmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ile tescilli çeşit olan Budakalaszi, yan dal açısı (aksil) (derece) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yan dal açısı (aksil) (derece) ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yan dal açısı değerleri 2014 yılında, 37.3- 48.4 derece arasında değişmiş ve en yüksek yan dal açısı değeri Kermanshah (48.4°) ve Sari (48.4°) popülasyonlarında saptanmıştır. En düşük yan dal açısı değeri ise Ankara (37.3°) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında yan dal açısı değerleri 35.7-46.1 derece arasında değişmiş ve en yüksek yan dal derece değerine Darram a ve b (sırayla 45.3 ve 46.1 derece) popülasyonlarında saptanmıştır. En düşük yan dal açısı değerleri ise Sari (35.7°) ve Cumaovası (36.0°) popülasyonlarında belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, 2014 deneme yılında en büyük yan dal açısına Kermanshah (48.4°) ve Sari (48.4°) popülasyonları sahip olmuş ve en düşük yan dal açısı ise Sari (35.7°) ve Cumaovası (36.0°) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Meryemana dikenini popülasyonlarına ait yan dal açısı (derece) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	45.9 ^{a-d}	45.0 ^{b-f}	45.4
	Ardabil	46.0 ^{a-d}	41.7 ^{g-j}	43.8
	Damavand	47.4 ^{a-c}	41.7 ^{g-j}	44.5
	Darram <u>a</u>	47.1 ^{a-c}	45.3 ^{a-e}	46.2
	Darram <u>b</u>	48.0 ^{ab}	46.1 ^{a-d}	47.1
	Firozabad	42.6 ^{e-i}	43.7 ^{d-h}	43.1
	Kermanshah	48.4 ^a	43.3 ^{d-h}	45.9
	Roodbar	42.5 ^{e-i}	42.0 ^{f-i}	42.3
	Sari	48.4 ^a	35.7 ⁿ	42.0
	Shayban	44.3 ^{c-g}	37.7 ^{l-n}	41.0
	Zanjan	40.9 ^{h-k}	40.7 ^{h-l}	40.8
	Ankara	37.3 ^m	43.3 ^{d-h}	40.3
Türkiye	Aydın	42.7 ^{e-i}	38.0 ^{k-n}	40.4
	Bornova	47.5 ^{ab}	36.7 ^{m-n}	42.1
	Cumaovası	47.5 ^{ab}	36.0 ⁿ	41.7
	Manisa	43.8 ^{d-h}	39.7 ^{i-m}	41.7
	Menemen	45.0 ^{b-f}	38.3 ^{k-n}	41.6
	Tescilli Çeşit	46.3 ^{a-d}	38.7 ^{j-n}	42.5
	Budakalaszi	46.3 ^{a-d}	38.7 ^{j-n}	42.5
Genel Ort.		45.1	40.7	42.9

Yapılan literatür taramasında *Silybum marianum* L. bitkisinde yan dal açısı özelliğini ölçme ve incelemesi ile ilgili yürütülmüş bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Robinson (2002), Asteraceae familyasında *Piptocarpha* cinsine ait Ecuador ve Peru kökenli üç yeni türün tanıtlım ve açıklamasında bu özelliği incelemiştir. Robinson (2002)'nin inceleme sonucuna göre, incelediği üç yeni tür arasında ve içinde yan dal açısı değerlerinde farklılık olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre *Piptocarpha geraldsmithii*'de yan dal açısı 90°, *Piptocarpha klugii*'de 80° olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Piptocarpha vasquezii*'de yan dal açısı 55- 75° arasında değiştiği saptanmıştır. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de, Robinson (2002)'un sonuçları gibi tür içinde yan dal açısı değerleri bakımından popülasyonlar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

4.1.5 Ana sap çapı (mm)

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, ana sap çapı (mm) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana sap çapı (mm) ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında ana sap çapı değerleri

15.2- 45.0 mm arasında değişmiş ve en büyük ana sap çapı değeri Manisa (45.0 mm) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana sap çapı değeri ise Kermanshah (15.2 mm) ve Roodbar (15.9 mm) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana sap çapı değeri 12.3- 37.5 mm arasında değişmiş ve en yüksek ana sap çapı değeri Cumaovası (37.5 mm) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük ana sap çapı değeri ise Zanzan (12.3 mm) popülasyonunda belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en büyük ana sap çapı Manisa popülasyonunda (45.0 mm) 2014 yılında ve en düşük ana sap çapı ise Zanzan popülasyonunda (12.3 mm) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

Gresta et al., (2007), yaptıkları araştırmada, üç farklı bölgeye ait olan meryemana diken popülasyonlarının ana sap çapı ortalama değeri 16.1- 21.8 mm arasında belirlemiştir. Bu değeri bizim denemenin her iki yılından da elde edilen değeri içerisinde yer aldığı izlenmekte ve uyum sağladığı görülmektedir.

Çizelge 4.6. Meryemana diken popülasyonlarına ait ana sap çapı (mm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	27.8 ^g	21.1 ^j	24.4
	Ardabil	19.8 ^l	20.1 ^{jk}	19.9
	Damavand	25.8 ^{hi}	20.1 ^{jk}	22.9
	Darram <u>a</u>	36.0 ^{cd}	18.8 ^{km}	27.4
	Darram <u>b</u>	35.9 ^{cd}	19.7 ^l	27.8
	Firozabad	25.4 ^{hi}	18.5 ^{lm}	21.9
	Kermanshah	15.2 ⁿ	18.0 ^m	16.6
	Roodbar	15.9 ⁿ	20.0 ^{jk}	18.0
	Sari	17.9 ^m	24.9 ⁱ	21.4
	Shayban	26.8 ^{gh}	19.3 ^{km}	23.1
	Zanzan	35.6 ^d	12.3 ^o	24.0
Türkiye	Ankara	25.4 ^{hi}	30.5 ^{ef}	27.9
	Aydın	25.6 ^{hi}	29.6 ^f	27.6
	Bornova	37.2 ^{bc}	29.5 ^f	33.4
	Cumaovası	31.6 ^e	37.5 ^b	34.6
	Manisa	45.0 ^a	30.1 ^f	37.6
	Menemen	31.7 ^e	26.6 ^{gh}	29.1
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	36.1 ^{bd}	28.0 ^g	32.1
Genel Ort.		28.6	23.6	26.1

4.1.6 Ana sap yaş ağırlığı (g/bitki)

Çalışmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ile tescilli çeşit Budakalaszi ana sap yaş ağırlığı (g/bitki) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana sap yaş ağırlık ortalama değerleri bakımından (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Ana sap yaş ağırlığı 2014 yılında, değerleri 131.7- 1140.8 g/bitki arasında değişmiş ve en yüksek ana sap yaş ağırlığı değerine Bornova (1140.8 g/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana sap yaş ağırlığı değeri ise Kermanshah (131.7 g/bitki) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana sap yaş ağırlığı değerleri 119.9- 960.6 g/bitki arasında değişmiş ve en yüksek ana sap yaş ağırlığı değeri Bornova (960.6 g/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana sap yaş ağırlığı değeri ise Kermanshah (119.9 g/bitki) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek ana sap yaş ağırlığı değeri Bornova (1140.8 g) popülasyonunda 2014 yılında ve en düşük ana sap yaş ağırlığı ise Kermanshah popülasyonunda (131.7 ve 119.9 g) 2014 ve 2015 yıllarında elde edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Meryemana diken popülasyonlarına ait ana sap yaş ağırlığı (g/bitki) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	726.2 ^e	601.8 ^g	664.0
	Ardabil	209.5 ^{o-q}	208.1 ^{o-q}	208.8
	Damavand	260.1 ^{mn}	192.4 ^{p-r}	226.3
	Darram <u>a</u>	953.4 ^b	819.0 ^d	886.2
	Darram <u>b</u>	951.0 ^b	857.5 ^{cd}	904.3
	Firozabad	249.7 ^{m-o}	214.8 ^{o-q}	232.3
	Kermanshah	131.7 ^s	119.9 ^s	125.8
	Roodbar	180.0 ^{qr}	161.6 ^{rs}	170.8
	Sari	247.9 ^{no}	229.5 ^{n-p}	238.7
	Shayban	528.2 ^h	500.9 ^{hi}	514.5
	Zanjan	510.4 ^{hi}	467.1 ^{ij}	488.8
Türkiye	Ankara	293.1 ^m	238.7 ^{no}	265.9
	Aydın	454.2 ^{jk}	416.1 ^{kl}	435.1
	Bornova	1140.8 ^a	960.6 ^b	1050.7
	Cumaovası	450.2 ^{jk}	448.0 ^{jk}	449.1
	Manisa	825.8 ^d	682.5 ^f	754.1
	Menemen	892.3 ^c	844.4 ^d	868.4
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	472.4 ^{ij}	401.5 ^l	436.9
Genel Ort.		526.5	464.7	495.6

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, ana sap yaş ağırlığı parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.7 Ana sap kuru ağırlığı (g/bitki)

İzmir koşullarında yürütülen bu araştırmada Meryemana dikeninin Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi ana sap kuru ağırlığı değeri (g/bitki) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana sap kuru ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl $\times$ Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında ana sap kuru ağırlığı değerleri 22.5-217.9 g/bitki arasında değişmiş ve en yüksek ana sap kuru ağırlığı değeri Bornova (217.9 g/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana sap kuru ağırlığı değeri ise Kermanshah (22.5 g/bitki) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana sap kuru ağırlığı değerleri 31.5- 278.6 g/bitki arasında değişmiş ve en yüksek ana sap kuru ağırlığı değeri Bornova (278.6 g/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana sap kuru ağırlığı değeri ise Kermanshah (31.5 g/bitki) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek ana sap kuru ağırlığı değeri Bornova popülasyonunda (278.6 g/bitki) 2015 yılında ve en düşük ana sap kuru ağırlığı ise Kermanshah popülasyonunda (22.5 g) 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Meryemana dikenini popülasyonlarına ait ana sap kuru ağırlığı (g/bitki) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	128.6 ^f	139.6 ^e	134.1
	Ardabil	30.9 ^{o-s}	55.5 ^k	43.2
	Damavand	25.1 ^{rs}	41.8 ^{l-n}	33.5
	Darram <u>a</u>	125.4 ^f	186.0 ^c	155.7
	Darram <u>b</u>	125.0 ^t	195.7 ^c	160.4
	Firozabad	27.7 ^{q-s}	39.7 ^{l-p}	33.7
	Kermanshah	22.5 ^s	31.5 ^{o-s}	27.0
	Roodbar	30.1 ^{p-s}	42.1 ^{l-n}	36.1
	Sari	37.1 ^{m-q}	69.5 ^j	53.3
	Shayban	88.1 ⁱ	125.2 ^f	106.7
	Zanjan	49.3 ^{kl}	85.5 ⁱ	67.4
Türkiye	Ankara	32.5 ^{n-r}	43.3 ^{lm}	37.9
	Aydın	57.0 ^k	99.0 ^h	78.0
	Bornova	217.9 ^b	278.6 ^a	248.3
	Cumaovası	44.0 ^{lm}	143.1 ^e	93.6
	Manisa	129.5 ^f	126.0 ^f	127.8
	Menemen	165.1 ^d	209.8 ^b	187.4
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	40.6 ^{t-o}	109.2 ^g	74.9
Genel Ort.		76.5	112.3	94.4

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, ana sap kuru ağırlığı parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu özellik tartışılamamıştır.

4.1.8 Yaprak uzunluğu (cm)

İki yıl yürütülen bu çalışmada Meryemana dikeninin Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi yaprak uzunluğu (cm) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yaprak uzunluğu ortalama değerleri açısından (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında yaprak uzunluğu değerleri 35.7- 67.8 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak uzunluğuna Menemen (67.8 cm) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük yaprak uzunluğu değerleri ise Sari (35.7 cm) popülasyonunda saptanmıştır. Ayrıca 2015 yılında yaprak boyu değerleri 26.9- 60.9 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak boyunu Menemen (60.9 cm) popülasyonu vermiştir. En düşük bitki boyu değerleri ise Sari ve Firozabad (26.9 cm) popülasyonlarında saptanmıştır. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en büyük yaprak boyu değeri Menemen (67.8 cm)

popülasyonunda 2014 yılında ve en düşük yaprak boyu değeri ise Firozabad (26,9 cm) ve Sari (26.9 cm) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak uzunluğu (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	57.2 ^{bc}	41.1 ^{kl}	49.1
	Ardabil	43.3 ^{i-k}	29.7 ^{pq}	36.5
	Damavand	45.4 ^{h-j}	34.0 ^{no}	39.7
	Darram <u>a</u>	48.5 ^{f-h}	34.0 ^{no}	41.2
	Darram <u>b</u>	51.4 ^{ef}	31.5 ^{op}	41.4
	Firozabad	50.0 ^{e-g}	26.9 ^q	38.4
	Kermanshah	51.0 ^{ef}	34.7 ^{m-o}	42.9
	Roodbar	41.0 ^{kl}	28.3 ^{pq}	34.7
	Sari	35.7 ^{mn}	26.9 ^q	31.3
	Shayban	40.8 ^{kl}	35.4 ^{mn}	38.1
	Zanjan	53.6 ^{c-e}	38.2 ^{lm}	45.9
Türkiye	Ankara	51.1 ^{ef}	46.7 ^{g-i}	48.9
	Aydın	53.6 ^{c-e}	48.1 ^{f-h}	50.9
	Bornova	56.0 ^{cd}	45.3 ^{h-j}	50.7
	Cumaovası	53.3 ^{de}	43.9 ^{i-k}	48.6
	Manisa	57.3 ^{bc}	48.1 ^{f-h}	52.7
	Menemen	67.8 ^a	60.9 ^b	64.3
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	41.8 ^{i-l}	34.7 ^{m-o}	38.2
Genel Ort.		49.9	38.9	44.1

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yaprak uzunluğu parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.9 Yaprak eni (cm)

Meryemana dikeninin incelenen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi iki yıl boyunca İzmir ekolojik koşullarında yaprak eni (cm) yönünden araştırılmışlardır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yaprak eni ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl×Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında yaprak eni değerleri 14.0- 26.8 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak enine Manisa (26.8 cm) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük yaprak eni değeri ise Roodbar (14.0 cm) popülasyonunda saptanmıştır. Ayrıca 2015 yılında yaprak eni değerleri 12.2- 25.2 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak enine Bornova ve Manisa (25.2 cm) popülasyonlarında ulaşılmıştır. En düşük yaprak eni değerleri

ise Darram a (12.2 cm), Roodbar (13.0 cm), Darram b (13.1) ve Firozabad (14.0 cm) popülasyonlarında saptanmıştır. Yıl $\times$ Popülasyon ikili etkileşimi istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. Buna göre 2014 yılında en yüksek yaprak eni değeri Manisa popülasyonunda elde edilirken, 2015 yılında Bornova ve Manisa popülasyonlarında belirlenmiştir. En düşük yaprak eni değeri ise Darram a (12.2 cm), Roodbar (13.0 cm), Darram b (13.1) ve Firozabad (14.0 cm) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak eni (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	25.1 ^{ab}	19.5 ^{f-i}	22.3
	Ardabil	18.0 ^{h-l}	13.7 ^{no}	15.9
	Damavand	21.4 ^{d-f}	18.7 ^{g-j}	20.1
	Darram a	18.3 ^{h-k}	12.2 ^o	15.2
	Darram b	18.3 ^{h-k}	13.1 ^o	15.7
	Firozabad	20.8 ^{d-g}	14.0 ^{m-o}	17.4
	Kermanshah	21.0 ^{d-g}	18.7 ^{g-j}	19.9
	Roodbar	14.0 ^{m-o}	13.0 ^o	13.5
	Sari	16.1 ^{k-m}	16.6 ^{i-l}	16.3
	Shayban	20.3 ^{e-h}	20.9 ^{d-g}	20.6
	Zanjan	22.0 ^{c-e}	17.3 ^{i-l}	19.6
Türkiye	Ankara	18.0 ^{h-l}	23.0 ^{b-d}	20.5
	Aydın	19.0 ^{g-i}	24.5 ^b	21.7
	Bornova	24.3 ^{bc}	25.2 ^{ab}	24.7
	Cumaovası	18.1 ^{h-l}	20.9 ^{d-g}	19.5
	Manisa	26.8 ^a	25.2 ^{ab}	26.0
	Menemen	24.8 ^{ab}	19.4 ^{f-i}	22.1
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	21.8 ^{d-i}	15.8 ^l	18.8
Genel Ort.		20.4	18.4	19.4

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yaprak eni parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.10 Yaprak sapı eni (cm)

2014- 2015 yıllarında Bornova koşullarında yürütülen bu araştırmada, Meryemana dikeninin incelenen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi yaprak sapı eni (cm) yönünden araştırılmışlardır. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yaprak sapı eni ortalama değerlerinde (Popülasyon ve Yıl $\times$ Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Deneme yılları dikkate alındığında, 2014 yılında yaprak sapı eni değerleri 2.0- 4.7 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak sapı enine Ahvaz (4.7 cm)

popülasyonu ulaşmıştır. En düşük yaprak sapı eni değeri ise Sari (2.0 cm) popülasyonunda saptanmıştır. Ayrıca 2015 yılında yaprak sapı eni değerleri 2.3-4.4 cm arasında değişmiş ve en yüksek yaprak sapı enine Ahvaz (4.4 cm) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük yaprak sapı eni değerine ise yine Sari (2.3 cm) olduğu belirlenmiştir. Genel değerlendirme yapıldığında deneme yıllarında en büyük yaprak sapı eni Ahvaz popülasyonunda (4.7 cm) 2014 yılında ve en düşük yaprak sapı eni ise Sari popülasyonunda (2.0 cm) yine 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak sapı eni (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	4.7 ^a	4.4 ^{ab}	4.5
	Ardabil	3.3 ^{h-n}	3.1 ^{k-o}	3.2
	Damavand	3.2 ^{j-n}	3.1 ^{m-o}	3.2
	Darram <u>a</u>	3.6 ^{e-j}	3.4 ^{f-k}	3.5
	Darram <u>b</u>	3.4 ^{g-m}	3.2 ^{k-n}	3.3
	Firozabad	3.0 ^{no}	2.8 ^o	2.9
	Kermanshah	3.4 ^{l-l}	3.3 ^{l-n}	3.3
	Roodbar	3.1 ^{l-o}	3.6 ^{e-i}	3.3
	Sari	2.0 ^q	2.3 ^p	2.1
	Shayban	3.6 ^{e-h}	3.3 ^{g-m}	3.5
	Zanjan	3.5 ^{f-k}	3.2 ^{k-n}	3.3
Türkiye	Ankara	3.9 ^{c-e}	3.4 ^{f-k}	3.7
	Aydın	3.1 ^{m-o}	3.1 ^{m-o}	3.1
	Bornova	3.7 ^{e-g}	3.6 ^{e-i}	3.6
	Cumaovası	3.4 ^{g-m}	3.7 ^{d-f}	3.5
	Manisa	4.0 ^{cd}	4.1 ^{bc}	4.1
	Menemen	3.6 ^{e-h}	3.6 ^{e-g}	3.6
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	3.4 ^{f-k}	3.9 ^{c-e}	3.6
Genel Ort.		3.4	3.4	3.4

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yaprak sapı eni parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.11 Yaprak sayısı (adet/bitki)

Meryemana dikeninin Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve Budakalaszi çeşidi yaprak sayısı (adet/bitki) yönünden iki yıl boyunca incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında,

yaprak sayısı ortalama değerlerinde istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Deneme yılları genel ortalamaları incelendiğinde ilk yıl 28.3 adet/ bitki, ikinci yıl 29.6 adet/ bitki yaprak sayısı tespit edilmiştir. Popülasyon iki yıl ortalamaları değerlendirdiğinde ise Menemen popülasyonu en yüksek değeri (42.7 adet/ bitki) vermiştir. 2014 yılında yaprak sayısı değerleri 19.4- 42.7 adet arasında değişmiş ve en yüksek yaprak sayısı değeri Menemen (42.7 adet/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yaprak sayısı değeri ise Ankara (19.4 adet/bitki) ve Kermanshah (19.5 adet/bitki) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında yaprak sayısı değerleri 17.8- 42.7 adet arasında değişmiş ve en yüksek yaprak sayısı değeri yine Menemen (42.7 adet/bitki) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yaprak sayısı değerleri ise Roodbar (17.8 adet/bitki) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en çok yaprak sayısına sahip olan Menemen popülasyonu (42.7 adet/bitki) 2014 ve 2015 yıllarında ve en düşük yaprak sayısına sahip olan ise Roodbar popülasyonu (17.8 adet/bitki) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak sayısı (adet/ bitki) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	32.3 ^{h-h}	29.4 ^{h-j}	30.9
	Ardabil	23.5 ^{m-p}	25.7 ^{k-m}	24.6
	Damavand	27.1 ^{j-l}	27.1 ^{j-l}	27.1
	Darram <u>a</u>	34.5 ^{ef}	33.7 ^{e-g}	34.1
	Darram <u>b</u>	34.2 ^{e-g}	33.9 ^{e-g}	34.0
	Firozabad	24.5 ^{k-n}	29.0 ^{ij}	26.7
	Kermanshah	19.5 ^{q-s}	19.7 ^{q-s}	19.6
	Roodbar	21. ^{o-r}	17.8 ^s	19.6
	Sari	22.4 ^{n-q}	24.8 ^{k-n}	23.6
	Shayban	38.0 ^{bc}	31.5 ^{g-i}	34.7
	Zanjan	21.1 ^{p-r}	24.7 ^{k-n}	22.9
Türkiye	Ankara	19.4 ^f	18.7 ^{rs}	19.0
	Aydın	24.2 ^{t-o}	30.3 ^{hi}	27.3
	Bornova	35.4 ^{c-e}	35.0 ^{d-f}	35.2
	Cumaovası	24.4 ^{k-n}	31.3 ^{g-i}	27.9
	Manisa	27.3 ^{jk}	39.1 ^b	33.2
	Menemen	42.7 ^a	42.7 ^a	42.7
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	37.7 ^{b-d}	37.7 ^{b-d}	37.7
Genel Ort.		28.3	29.6	28.9

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yaprak sayısına ilişkin daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.12 Yaş yaprak ağırlığı (g)

Bu çalışmada Meryemana dikeninin incelenen popülasyonları ve tescilli çeşidi yaş yaprak ağırlığı (g) yönünden iki yıl süresince araştırılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında yaş yaprak ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yıl× Popülasyon ikili interaksyonu önemli çıkmıştır. Buna göre her bir yıl farklı bir popülasyon en yüksek değeri vermiştir. 2014 yılında yaş yaprak ağırlığı değerleri 152.3- 737.9 g arasında değişmiş ve en yüksek yaş yaprak ağırlığı değeri Aydın (737.9 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yaş yaprak ağırlığı değeri ise Sari (152.3 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında yaş yaprak ağırlığı değerleri 91.2- 686.3 g arasında değişmiş ve en yüksek yaş yaprak ağırlığı değerine Cumaovası (686.3 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yaş yaprak ağırlığı değeri de Ardabil (91.2 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en büyük yaş yaprak ağırlığı Aydın (737.9 g) popülasyonunda 2014 yılında ve en düşük yaş yaprak ağırlığı ise Ardabil (91.2 g) popülasyonunda 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait yaş yaprak ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	483.4 ^t	208.1 ⁿ	345.8
	Ardabil	238.5 ^m	91.2 ^s	164.8
	Damavand	266.5 ^l	181.5 ^o	224.0
	Darram <u>a</u>	477.7 ^f	103.7 ^{q-s}	290.7
	Darram <u>b</u>	476.4 ^t	107.2 ^{qf}	291.8
	Firozabad	273.4 ^l	95.1 ^{rs}	184.2
	Kermanshah	185.5 ^o	99.5 ^{rs}	142.5
	Roodbar	177.1 ^o	102.1 ^{q-s}	139.6
	Sari	152.3 ^p	103.7 ^{q-s}	128.0
	Shayban	357.9 ⁱ	113.4 ^q	235.6
	Zanjan	337.9 ^j	102.3 ^{q-s}	220.1
Türkiye	Ankara	242.0 ^m	384.9 ^g	313.5
	Aydın	737.9 ^a	297.9 ^k	517.9
	Bornova	617.8 ^d	359.8 ⁱ	488.8
	Cumaovası	386.2 ^g	686.3 ^b	536.2
	Manisa	652.2 ^c	555.7 ^e	603.9
	Menemen	648.4 ^c	377.2 ^{gh}	512.8
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	366.8 ^{hi}	328.8 ^j	347.8
Genel Ort.		393.2	238.8	316

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yaş yaprak ağırlığı parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

4.1.13 Kuru yaprak ağırlığı (g)

Bu araştırmada, Meryem ana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli 17 popülasyonu ile tescilli çeşit Budakalaszi kuru yaprak ağırlığı (g) yönünden karşılaştırılmışlardır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, kuru yaprak ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında kuru yaprak ağırlığı değerleri 20.9- 120.4 g arasında değişmiş ve en yüksek kuru yaprak ağırlığı değeri Menemen (120.4 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük kuru yaprak ağırlığı değeri ise Sari (20.9 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında kuru yaprak ağırlığı değerleri 16.1- 136.7 g arasında değişmiş ve en yüksek kuru yaprak ağırlığı değeri Cumaovası (136.7 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük kuru yaprak ağırlığı değeri ise Firozabad (16.1 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek kuru yaprak ağırlığı Cumaovası popülasyonunda (136.7 g) 2015 yılında ve en düşük kuru yaprak ağırlığı ise

Firozabad (16.1 g) popülasyonunda yine 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait kuru yaprak ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	56.5 ^h	38.7 ^m	47.6
	Ardabil	26.6 ^p	20.5 ^t	23.5
	Damavand	35.5 ⁿ	20.5 ^t	28.0
	Darram <u>a</u>	45.3 ^k	22.6 ^{rs}	34.0
	Darram <u>b</u>	45.2 ^k	24.1 ^{qr}	34.7
	Firozabad	31.2 ^o	16.1 ^u	23.6
	Kermanshah	22.7 ^{rs}	20.4 ^t	21.6
	Roodbar	23.4 ^{qr}	24.8 ^{pq}	24.1
	Sari	20.9 st	29.9 ^o	25.4
	Shayban	75.5 ^{de}	24.5 ^{qr}	50.0
	Zanjan	37.9 ^m	20.0 ^t	28.9
Türkiye	Ankara	30.3 ^o	67.4 ^t	48.9
	Aydın	76.8 ^d	62.3 ^g	69.5
	Bornova	54.5 ⁱ	77.2 ^d	65.8
	Cumaovası	49.4 ^j	136.7 ^a	93.0
	Manisa	61.4 ^g	87.0 ^c	74.2
	Menemen	120.4 ^b	66.5 ^f	93.4
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	42.7 ⁱ	74.6 ^e	58.6
Genel Ort.		47.6	46.3	46.9

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, kuru yaprak ağırlığına ait daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu özellik tartışlamamıştır.

4.1.14 Yaprak açısı (koltuk) (ana sap ve yan dal arasındaki derece)

Meryemana dikeninin Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, yaprak açısı (ana sap ve yan dal arasındaki derece) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, yaprak açısı ortalama değerleri, istatistiki açıdan (Yıl ve Popülasyon) önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında yaprak açısı değerleri 46.2- 68.1 derece arasında değişmiş ve en yüksek yaprak açısı değerine Bornova (68.1) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük yaprak açısı değeri ise Ankara (46.2) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında yaprak açısı değerleri 44.0- 64.3 derece arasında değişmiş ve en yüksek yaprak açısı değeri (derece) Budakalaszi çeşidinde (64.3) saptanmıştır. En düşük yaprak açısı değerleri ise Ankara (44.0) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler

sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en büyük yaprak açısı Bornova popülasyonunda (68.1°) 2014 yılında ve en düşük yaprak açısı ise Ankara popülasyonunda (44.0°) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait yaprak açısı (derece) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	59.1 ^{e-g}	56.3 ^{f-k}	57.7
	Ardabil	63.2 ^{b-e}	56.7 ^{f-i}	60.0
	Damavand	55.3 ^{g-m}	51.7 ^{j-n}	53.5
	Darram <u>a</u>	52.9 ⁱ⁻ⁿ	50.7 ^{m-o}	51.8
	Darram <u>b</u>	53.4 ⁱ⁻ⁿ	50.0 ^o	51.7
	Firozabad	53.7 ⁱ⁻ⁿ	50.8 ^{m-o}	52.2
	Kermanshah	64.9 ^{a-c}	60.3 ^{c-l}	62.6
	Roodbar	56.0 ^{f-l}	52.3 ^{j-n}	54.2
	Sari	51.7 ^{j-n}	51.3 ^{j-n}	51.5
	Shayban	51.6 ^{k-n}	50.6 ^{m-o}	51.1
	Zanjan	53.9 ^{h-n}	51.3 ^{j-n}	52.6
Türkiye	Ankara	46.2 ^{op}	44.0 ^p	45.1
	Aydın	55.4 ^{g-m}	53.3 ^{j-n}	54.4
	Bornova	68.1 ^a	61.7 ^{c-e}	64.9
	Cumaovası	58.6 ^{e-h}	55.7 ^{f-l}	57.1
	Manisa	59.9 ^{d-g}	56.7 ^{f-i}	58.3
	Menemen	56.3 ^{f-k}	56.4 ^{f-j}	56.4
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	66.9 ^{ab}	64.3 ^{a-d}	65.6
Genel Ort.		57.0	54.1	55.6

Yapılan literatür taramasında *Silybum marianum* L. bitkisinde yaprak açısı özelliğinin ölçme ve incelenmesi ile ilgili yürütülmüş bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Robinson (2002), Asteraceae familyasında *Piptocarpha* cinsine ait Ekvador ve Peru kökenli üç yeni türün tanıtlam ve açıklamasında bu özelliği incelemiştir. Robinson (2002)'nin çalışması sonucuna göre, incelediği üç yeni tür arasında ve içinde yaprak açısı değerlerinde farklılık olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre *Piptocarpha geraldsmithii*'de yaprak açısı 60°, *Piptocarpha klugii*'de 75° olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Piptocarpha vasquezii*'de yaprak açısının 65- 75° arasında değiştiği saptanmıştır. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de, aynı tür içinde yaprak açısı değerleri bakımından popülasyonlar arasında farklılık olduğu görülmüştür.

4.1.15 Çiçek sayısı (adet/bitki)

Meryemana dikeninin, incelenen popülasyonları ve tescilli çeşidi çiçek sayısı (adet/bitki) yönünden karşılaştırılmışlardır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, çiçek sayısı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında çiçek sayısı değerleri 9.4- 27.6 adet arasında değişmiş ve en yüksek çiçek sayısı değerine Ardabil (27.6) popülasyonu ile Budakalaszi (26.9) çeşidinde rastlanılmıştır. En düşük çiçek sayısı değerleri ise Kermanshah (9.4) ve Zanjan (9.5) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında çiçek sayısı değerleri 8.0- 20.5 adet arasında değişmiş ve en yüksek çiçek sayısı değerine Ardabil (20.5) popülasyonu ile Budakalaszi (19.2) çeşidinde ulaşılmıştır. En düşük çiçek sayısı değeri ise Sari (8.0) ve Zanjan (8.0) popülasyonlarında belirlenmiştir. Deneme sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en çok çiçek sayısına Ardabil popülasyonu sahip olmuş (27.6) ve bu popülasyonu Budakalaszi çeşidi (26.9) 2014 yılında takip etmiştir. En düşük çiçek sayısı ise Sari (8.0) ve Zanjan (8.0) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Meryemana diken popülasyonlarına ait çiçek sayısı (adet) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	12.5 ^{g-j}	15.2 ^{d-f}	13.9
	Ardabil	27.6 ^a	20.5 ^b	24.1
	Damavand	11.5 ^{i-k}	12.6 ^{g-j}	12.1
	Darram <u>a</u>	16.4 ^{cd}	16.2 ^{c-e}	16.3
	Darram <u>b</u>	16.9 ^c	16.4 ^{c-e}	16.6
	Firozabad	13.2 ^g	8.3 ^{pq}	10.8
	Kermanshah	9.4 ^{n-p}	11.3 ^k	10.4
	Roodbar	13.0 ^{gh}	10.9 ^{kl}	11.9
	Sari	9.7 ^{l-o}	8.0 ^q	8.9
	Shayban	15.6 ^{c-f}	15.2 ^{d-f}	15.4
	Zanjan	9.5 ^{m-p}	8.0 ^q	8.7
Türkiye	Ankara	11.8 ^{h-k}	10.8 ^{k-m}	11.3
	Aydın	10.0 ^{l-o}	9.1 ^{o-q}	9.5
	Bornova	12.7 ^{g-i}	15.1 ^{ef}	13.9
	Cumaovası	11.8 ^{h-k}	14.8 ^f	13.3
	Manisa	10.7 ^{k-n}	14.5 ^f	12.6
	Menemen	16.8 ^c	16.2 ^{c-e}	16.5
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	26.9 ^a	19.2 ^b	23.1
Genel Ort.		14.2	13.5	13.8

Meryemana dikenini çiçek sayısı açısından inceleyen önceki çalışmalara göre de bu bitkinin popülasyonları arasında farklılık olduğu belirlenmiştir.

Koláčková and Růžicková (2013), iki farklı lokasyonda yetiştirdikleri 15 meryemana dikenini popülasyonu üzerinde yaptıkları inceleme sonucunda, popülasyonlar ve lokasyonlar arasında çiçek sayısı açısından farklılık olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre, birinci lokasyonda popülasyonlar arası çiçek sayısı ortalama değerleri 2.00-13.90 adet, ikinci lokasyonda ise 3.80-9.70 adet aralığında olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçları bizim elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırdığımızda, Koláčková and Růžicková (2013) daha düşük çiçek sayısına sahip olan popülasyonları da saptamışlardır. Ayrıca en yüksek çiçek sayısına sahip olan popülasyonlar İzmir koşullarında elde edilen sonuçların içerisinde yer almakta ve uyum sağlamaktadır.

Shokrpour et al., (2011), meryemana dikeninin 25 genotipinde (23 İran orijinli ekotip ve iki tescilli çeşit) yaptıkları araştırmada, genotipleri çiçek sayısı açısından incelemiş ve genotipler arasında çiçek sayısı açısından farklılık olduğunu ifade etmişlerdir. Bu özelliğin ortalama değerlerini 11.85-26.92 adet olarak saptamışlardır. Bu değerler bizim araştırmanın ilk yılından elde edilen sonuçların içerisinde yer almaktadır. Ancak denemenin ikinci yılından elde ettiğimiz çiçek sayısı ortalama değerlerinin Shokrpour et al., (2011), inceledikleri genotiplerin çiçek sayısı değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Gresta et al., (2007), yaptıkları araştırmada, üç farklı bölgeye ait olan meryemana dikenini popülasyonlarının çiçek sayısı ortalama değerlerini 9.3-15.2 adet arasında belirlemişler ve bu değerler bizim denemenin her iki yılından da elde edilen sonuçların sınırları içerisinde yer almakta ve uyum sağlamaktadır.

4.1.16 Ana tabla çapı (mm)

Tescilli bir çeşit ve 17 popülasyondan oluşan meryemana dikenini bitkisinin Bornova koşullarında elde edilen ana tabla çapı (mm)'na ilişkin istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 4.1'de ve ortalama değerleri Çizelge 4.17'de verilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana tabla çapı ortalama değerleri bakımından, istatistiki açıdan (Yıl ve Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında ana tabla çapı değerleri 39.0- 48.6 mm arasında değişmiş ve en büyük ana tabla çapı değeri Bornova (48.6

mm) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana tabla çapı değeri ise Ahvaz (39.0 mm) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana tabla çapı değerleri 32.0- 41.3 mm arasında değişmiş ve en yüksek ana tabla çapı değeri Bornova (41.3 mm) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana tabla çapı değerleri ise Shayban (32.0 mm) popülasyonunda belirlenmiştir. Araştırma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en büyük ana tabla çapı Bornova popülasyonunda (48.6 mm) 2014 yılında ve en düşük ana tabla çapı ise Shayban popülasyonunda (32.0 mm) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla çapı (mm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	39.0 ^{g-m}	33.9 ^{qf}	36.4
	Ardabil	40.1 ^{t-k}	35.6 ^{n-q}	37.8
	Damavand	43.6 ^{b-e}	38.3 ^{h-n}	41.0
	Darram <u>a</u>	43.2 ^{c-e}	38.9 ^{g-m}	41.0
	Darram <u>b</u>	43.2 ^{c-e}	39.2 ^{g-m}	41.2
	Firozabad	40.2 ^{t-j}	36.7 ^{l-q}	38.4
	Kermanshah	42.3 ^{c-f}	36.4 ^{m-q}	39.3
	Roodbar	41.6 ^{c-g}	37.2 ^{k-p}	39.4
	Sari	40.3 ^{t-i}	34.8 ^{o-r}	37.6
	Shayban	41.3 ^{d-g}	32.0 ^f	36.6
	Zanjan	44.3 ^{bc}	37.6 ^{i-o}	41.0
Türkiye	Ankara	46.1 ^{ab}	38.4 ^{h-n}	42.2
	Aydın	41.1 ^{e-h}	36.0 ^{n-q}	38.5
	Bornova	48.6 ^a	41.3 ^{d-g}	45.0
	Cumaovası	41.7 ^{c-g}	37.4 ^{j-o}	39.5
	Manisa	43.9 ^{b-e}	38.9 ^{g-m}	41.4
	Menemen	44.1 ^{b-d}	41.5 ^{c-g}	42.8
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	39.5 ^{t-l}	34.4 ^{p-r}	36.9
Genel Ort.		42.4	37.1	39.8

Shokrpour et al. (2011), meryemana dikenli ekotipleri ve tescilli çeşitleri üzerine yaptıkları araştırmada, ana tabla çapı ortalama değerlerinin 37.75- 44.86 mm arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu değerleri bizim denemeden elde edilen sonuçlar ile karşılaştırdığımızda, denememizde daha küçük çiçek çapına sahip olan bitkilerin belirlendiğini, bunun yanı sıra Shokrpour et al. (2011)'in denemesinde daha büyük çiçek çaplarına ulaşan popülasyonların olduğunu söyleyebiliriz.

Geneva et al. (2008), meryemana dikenli üzerine yaptıkları gübreleme denemesinde, kontrol ve gübrelemeye tabi tutulan bitkilerde ana tabla çapı

ortalama değerleri 33.8- 34.6 mm arasında bulunmuştur. Bu değerlerin bizim denemeden elde edilen verilerin içerisinde yer aldığı ve uyum sağladığı izlenmektedir.

Gresta et al., (2007), yaptıkları araştırmada, üç farklı bölgeye ait olan meryemana dikenli popülasyonlarının ana tabla çapı ortalama değerlerini 42.7- 51.4 mm olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmada bizim araştırmaya göre daha büyük ana tabla çapına sahip olan popülasyonların belirlendiği görölmektedir.

4.1.17 Ana tabla ağırlığı (g)

Meryem ana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, ana tabla ağırlığı (g) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana tabla ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (izelge 4.1). 2014 yılında ana tabla ağırlığı değerleri 6.1- 11.5 g arasında değişmiş ve en büyük ana tabla ağırlığı değeri Bornova ve Ankara popülasyonlarında (11.5 g) saptanmıştır. En düşük ana tabla ağırlığı değeri ise Firozabad (6.1) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana tabla ağırlığı değerleri 5.5- 11.0 g arasında değişmiş ve en yüksek ana tabla ağırlığı değeri Menemen (11.0 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana tabla ağırlığı değerleri ise Budakalaszi eşidinde (5.5 g) belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en büyük ana tabla ağırlığı Bornova popülasyonunda (11.5 g) 2014 yılında ve en düşük ana tabla ağırlığı ise Budakalaszi eşidinde (5.5 g) 2015 yılında elde edilmiştir (izelge 4.18).

Çizelge 4.18. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait ana tabla ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	6.5 ^{n-q}	6.3 ^{o-q}	6.4
	Ardabil	8.1 ^{g-l}	6.7 ^{m-q}	7.4
	Damavand	8.5 ^{e-j}	7.5 ^{t-o}	8.0
	Darram <u>a</u>	9.2 ^{e-h}	9.6 ^{c-f}	9.4
	Darram <u>b</u>	9.0 ^{e-i}	8.6 ^{e-j}	8.8
	Firozabad	6.1 ^{pq}	7.1 ^{k-p}	6.6
	Kermanshah	9.8 ^{b-e}	9.9 ^{b-e}	9.9
	Roodbar	8.6 ^{e-j}	8.6 ^{e-j}	8.6
	Sari	6.9 ^{l-q}	6.1 ^{pq}	6.5
	Shayban	8.4 ^{f-k}	5.7 ^{pq}	7.1
	Zanjan	10.7 ^{a-d}	7.6 ^{t-o}	9.2
Türkiye	Ankara	11.5 ^a	7.8 ^{h-n}	9.7
	Aydın	9.2 ^{e-h}	7.9 ^{h-m}	8.5
	Bornova	11.5 ^a	10.9 ^{a-c}	11.2
	Cumaovası	6.7 ^{m-q}	5.9 ^{pq}	6.3
	Manisa	9.4 ^{d-g}	9.0 ^{e-i}	9.2
	Menemen	10.7 ^{a-d}	11.0 ^{ab}	10.9
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	7.1 ^{k-p}	5.5 ^q	6.3
Genel Ort.		8.8	7.9	8.3

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, ana tabla ağırlığı parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.18 Bitki başına çiçek ağırlığı (g)

Bornova ekolojik koşullarında 2013-2014 ve 2014-2015 yıllarında yürütülen çalışmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi tek bitki çiçek ağırlığı (g) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, tek bitki çiçek ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında bitki başına çiçek ağırlığı değerleri 41.8- 193.6 g arasında değişmiş ve en büyük bitki başına çiçek ağırlığı değeri Menemen popülasyonunda (193.6 g) saptanmıştır. En düşük bitki başına çiçek ağırlığı değeri ise Sari (41.8 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana tabla ağırlığı değerleri 39.2- 83.7 g arasında değişmiş ve en yüksek bitki başına çiçek ağırlığı değeri Bornova (83.7 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük bitki başına çiçek ağırlığı değerleri ise Zanjan (39.2 g) popülasyonunda belirlenmiştir.

Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en büyük bitki başına çiçek ağırlığı Menemen popülasyonunda (193.6 g) 2014 yılında ve en düşük tek bitki çiçek ağırlığı ise Zanjan popülasyonunda (39.2 g) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait bitki başına çiçek ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	48.5 ^{tu}	47.6 ^{uv}	48.0
	Ardabil	61.9 ^{n-p}	64.6 ^{l-n}	63.3
	Damavand	65.7 ^{l-n}	56.0 ^{p-s}	60.9
	Darram <u>a</u>	95.2 ^d	73.3 ^{l-k}	84.3
	Darram <u>b</u>	94.0 ^{de}	80.5 ^{gh}	87.2
	Firozabad	72.6 ^{l-k}	57.4 ^{o-q}	65.0
	Kermanshah	63.2 ^{m-o}	49.7 ^{s-u}	56.5
	Roodbar	56.5 ^{p-r}	68.2 ^{k-n}	62.3
	Sari	41.8 ^{vw}	69.5 ^{l-m}	55.6
	Shayban	96.9 ^d	49.0 ^{tu}	73.0
	Zanjan	71.3 ^{l-l}	39.2 ^w	55.2
Türkiye	Ankara	121.0 ^c	57.5 ^{o-q}	89.2
	Aydın	88.3 ^{ef}	48.6 ^{tu}	68.4
	Bornova	122.8 ^c	83.7 ^{fg}	103.3
	Cumaovası	88.5 ^{ef}	50.1 ^{r-u}	69.3
	Manisa	85.6 ^{fg}	74.9 ^{hj}	80.2
	Menemen	193.6 ^a	76.6 ^{hi}	135.1
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	146.7 ^b	54.8 ^{q-t}	100.7
Genel Ort.		89.7	61.2	75.4

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, bitki başına çiçek ağırlığı parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.19 Ana tabla tohum sayısı (adet)

Türkiye ve İran orijinli Meryem ana dikenli popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi Bornova ekolojik koşullarında, ana tabla tohum sayısı (adet) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana tabla tohum sayısı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında ana tabla tohum sayısı değerleri 121.6- 280.5 adet arasında değişmiş ve en yüksek ana tabla tohum sayısı değeri Zanjan (280.5 adet) ve Ankara (279.8 adet)

popülasyonlarında saptanmıştır. En düşük ana tabla tohum sayısı değeri ise Ahvaz (121.6) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana tabla tohum sayısı değerleri 125.5- 262.5 adet arasında değişmiş ve en yüksek ana tabla tohum sayısı değeri Zanjan (262.5 adet) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana tabla tohum sayısı değerleri ise yine Ahvaz (125.5) popülasyonunda belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en büyük ana tabla tohum sayısı Zanjan (280.5) ve Ankara (279.8) popülasyonlarında 2014 yılında ve en düşük ana tabla tohum sayısı ise Ahvaz popülasyonunda (121.6) 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla tohum sayısı (adet) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	121.6 ^t	125.5 st	123.6
	Ardabil	165.7 ^{op}	197.8 ^{lm}	181.7
	Damavand	203.0 ^{kl}	221.2 ^{hi}	212.1
	Darram <u>a</u>	231.9 ^{fg}	223.4 ^{g-i}	227.7
	Darram <u>b</u>	230.5 ^{t-h}	237.5 ^{ef}	234.0
	Firozabad	185.3 ⁿ	232.6 ^{fg}	208.9
	Kermanshah	216.1 ^{ij}	244.1 ^{de}	230.1
	Roodbar	191.6 ^{mn}	204.2 ^{kl}	197.9
	Sari	159.6 ^{o-q}	167.0 ^o	163.3
	Shayban	154.1 ^q	151.9 ^q	153.0
	Zanjan	280.5 ^a	262.5 ^b	271.5
Türkiye	Ankara	279.8 ^a	235.2 ^{ef}	257.5
	Aydın	202.0 ^{kl}	208.2 ^{jk}	205.1
	Bornova	255.9 ^b	248.8 ^{cd}	252.3
	Cumaovası	156.3 ^{pq}	221.6 ^{hi}	188.9
	Manisa	254.9 ^{bc}	252.8 ^{b-d}	253.8
	Menemen	258.6 ^b	247.4 ^{cd}	253.0
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	134.0 ^{rs}	136.4 ^r	135.2
Genel Ort.		204.5	212.1	208.3

Gresta et al.,(2007), üç farklı lokasyonda yaptıkları deneme sonuçlarına bakıldığında, ana tabla tohum sayısı 69.7- 103.9 adet arasında değişmiştir. Araştırmacılar ayrıca lokasyonlar arasında %5 seviyesinde anlamlı bir farklılık olduğunu ifade etmişlerdir.

Shokrpour et al., (2011), İran ekotipleri üzerine yürüttükleri araştırmada ana tabla tohum sayısı 51.60- 101.41 adet arasında değişmiştir. Araştırmalar karşılaştırıldığında, İzmir koşullarında denemenin her iki senesinden de elde edilen en düşük ortalama değerlerinin Gresta et al., (2007) ile Shokrpour et al., (2011)'ın araştırmalarının en yüksek ortalama değerlerinin üstünde olduğu

görülmektedir.

Geneva et al., (2008), yaptıkları gübre uygulaması sonuçlarına göre, ana tabla tohum sayısı kontrol ve gübre uygulaması altında olan bitkiler arasında denemenin ilk yılında 85.8- 113.1 adet, denemenin ikinci yılında ise 119.4- 185.5 adet aralığında değişmiştir. Bu denemenin sonuçlarını İzmir koşullarında yaptığımız popülasyon denemesi ile karşılaştırdığımızda, Geneva et al., (2008)'ın denemelerinin ilk senesinden elde edilen en yüksek değerler bizim denemenin her iki yılından da elde edilen değerlerin altında oldukları izlenmektedir. Geneva et al., (2008)'ın denemenin ikinci senesinde kaydettikleri ana tablate en düşük tohum sayısının ise bizim iki yıllık denemede belirlediğimiz en düşük değerlerin altında olduğu görülmektedir. Ayrıca ikinci yıl elde ettikleri en yüksek değerin ise bizim denemenin her iki senesinden elde edilen verilerin içerisinde yer aldığı görülmektedir.

4.1.20 Bitki başına tohum sayısı (adet)

Bu çalışmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve Budakalaszi çeşidi, tek bitki tohum sayısı (adet) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, tek bitki tohum sayısı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında tek bitki tohum sayısı değerleri 689.9- 2521.8 adet arasında değişmiş ve en yüksek tek bitki tohum sayısı değeri Menemen (2521.8 adet) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük tek bitki tohum sayısı değeri ise Ardabil (689.9 adet) ve Ahvaz (692.0 adet) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında tek bitki tohum sayısı değerleri 741.0- 1756.8 adet arasında değişmiş ve en yüksek tek bitki tohum sayısı değeri Darram a (1756.8 adet) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük tek bitki tohum sayısı değerleri ise Ardabil (741.0 adet) ve Ahvaz (757.7 adet) popülasyonlarında belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek tek bitki tohum sayısı Menemen popülasyonunda (2521.8 adet) 2014 yılında ve en düşük tek bitki tohum sayısı ise Ardabil (689.9 adet) ve Ahvaz (692.0 adet) popülasyonlarında 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait bitki başına tohum sayısı (adet) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	692.0 ^s	757.7 ^t	724.9
	Ardabil	689.9 ^s	741.0 ^f	715.5
	Damavand	866.7 ^q	1000.9 ^o	933.8
	Darram <u>a</u>	1828.5 ^b	1756.8 ^c	1792.7
	Darram <u>b</u>	1823.5 ^b	1657.8 ^{de}	1740.6
	Firozabad	1588.8 ^{fg}	1128.3 ⁿ	1358.5
	Kermanshah	1025.2 ^o	1114.3 ⁿ	1069.8
	Roodbar	934.4 ^p	1039.6 ^o	987.0
	Sari	1398.1 ⁱ	845.6 ^q	1121.8
	Shayban	1369.2 ^{ij}	1107.2 ⁿ	1238.2
	Zanjan	1532.0 ⁿ	851.5 ^q	1191.7
Türkiye	Ankara	1764.5 ^c	1204.7 ^{lm}	1484.6
	Aydın	1329.8 ^j	1109.9 ⁿ	1219.8
	Bornova	1592.4 ^{fg}	1562.6 ^{gh}	1577.5
	Cumaovası	1239.1 ^{kl}	1184.6 ^m	1211.9
	Manisa	1630.9 ^{ef}	1249.7 ^k	1440.3
	Menemen	2521.8 ^a	1753.3 ^c	2137.5
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	1691.5 ^d	921.8 ^p	1306.6
Genel Ort.		1417.7	1166.0	1291.8

Gresta et al., (2007), İtalya’da yaptıkları araştırmada, üç farklı jeografik bölgenin meryemana dikenli popülasyonlarını inceleme altına almışlardır. Bu denemenin sonuçlarına göre bitki başına tohum sayısı ortalama değerleri 749.6-1119.4 adet arasında değişmiştir. Araştırmada elde edilen veriler bizim sınırlarımız içinde kalmış, ancak en yüksek değerin bizim sonuçlarımızdan daha düşük olduğu görülmüştür.

4.1.21 Ana tabla tohum ağırlığı (g)

Meryem ana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, ana tabla tohum ağırlığı (g) yönünden iki yıl boyunca incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, ana tabla tohum ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında ana tabla tohum ağırlığı değerleri 2.8- 6.6 g arasında değişmiş ve en yüksek ana tabla tohum ağırlığı değeri Ankara (6.6 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük ana tabla tohum ağırlığı değeri ise Budakalaszi çeşidi (2.8 g), Sari (2.9 g) ve Ahvaz (2.9 g) popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında ana tabla tohum ağırlığı değerleri 2.7- 6.1 g arasında değişmiş ve en

yüksek ana tabla tohum ağırlığı değeri Menemen (6.1 g) ve Zanjan (6.1 g) popülasyonlarında saptanmıştır. En düşük ana tabla tohum ağırlığı değerleri ise Budakalaszi çeşidinde (2.7 g) belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en büyük ana tabla tohum ağırlığı Ankara popülasyonunda (6.6 g) 2014 yılında ve en düşük ana tabla tohum ağırlığı ise Budakalaszi çeşidinde (2.7 g) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait ana tabla tohum ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	2.9 st	3.1 ^{rs}	3.0
	Ardabil	3.7 ^p	4.3 ⁿ	4.0
	Damavand	4.5 ^{mn}	5.3 ^{gh}	4.9
	Darram <u>a</u>	5.2 ^{hi}	5.1 ^{h-j}	5.2
	Darram <u>b</u>	5.2 ^{hi}	5.5 ^{lg}	5.4
	Firozabad	4.0 ^o	5.3 ^{gh}	4.7
	Kermanshah	5.2 ^{hi}	5.9 ^{c-e}	5.5
	Roodbar	4.8 ^{j-l}	4.9 ^{j-l}	4.8
	Sari	2.9 st	3.4 ^{pq}	3.2
	Shayban	3.6 ^p	3.3 ^{qr}	3.4
	Zanjan	6.2 ^b	6.1 ^{b-d}	6.1
Türkiye	Ankara	6.6 ^a	5.8 ^{d-f}	6.2
	Aydın	4.7 ^{k-m}	4.9 ^k	4.8
	Bornova	5.9 ^{b-e}	6.0 ^{b-d}	6.0
	Cumaovası	3.0 ^s	4.6 ^{t-n}	3.8
	Manisa	5.3 ^{gh}	5.7 ^{ef}	5.5
	Menemen	6.0 ^{b-d}	6.1 ^{bc}	6.1
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	2.8 st	2.7 ^t	2.8
Genel Ort.		4.6	4.9	4.7

Geneva et al. (2008), meryemana dikenli üzerine yaptıkları yaprak gübrelemesinin verim komponentleri üzerine olan etkisi konulu araştırmada, denemenin birinci yılında kontrol ve gübrelemeye tabi tutulan bitkilerin ana tablalarından elde edilen tohum ağırlığı ortalama değerlerinin 2.30- 3.11g, ikinci yılında ise 3.28- 4.92 g olduğu saptanmıştır. Bu araştırmada kullanılan bitki materyalinin kontrol ve farklı gübrelemelerden elde edilen ana tabla tohum verimi ortalama değerlerini bizim araştırmanın değerleri ile karşılaştırdığımızda, denemenin birinci senesinde daha düşük verim elde ettikleri, ikinci sene verimlerinin ise bizim elde ettiğimiz ana tabla tohum verimlerinin içerisinde yer aldıkları görülmektedir.

Shokrpour et al. (2011), meryemana dikeninin 23 ekotipi ve iki tescilli çeşidi üzerine yürüttükleri araştırmada, ana tabla tohum verimi ortalama

değerlerinin popülasyonlar arasında 0.97- 1.90 g arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu değerlerin bizim çalışmamızın her iki yılından da elde edilen değerlerin altında olduğu izlenmektedir.

4.1.22 Bitki başına tohum verimi (g)

Araştırmada Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, bitki başına tohum verimi(g) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, bitki başına tohum verimiortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında bitki başına tohum verimideğerleri 15.3- 58.8 g arasında değişmiş ve en yüksek bitki başına tohum verimideğeri Menemen (58.8 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük bitki başına tohum verimideğeri ise Ardabil (15.3 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında bitki başına tohum verimideğerleri 16.3- 43.4 g arasında değişmiş ve en yüksek bitki başına tohum verimideğeri Menemen (43.4 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük bitki başına tohum verimideğeri ise Ardabil (16.3 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek bitki başına tohum verimiMenemen popülasyonunda (58.8 g) 2014 yılında ve en düşük bitki başına tohum verimiise Ardabil popülasyonunda (15.3 g) yine 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Meryemana dikenini popülasyonlarına ait bitki başına tohum verimi(g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	16.6 ^{t-v}	18.8 ^{ts}	17.7
	Ardabil	15.3 ^v	16.3 ^{uv}	15.8
	Damavand	19.0 ^r	24.0 ^{pq}	21.5
	Darram <u>a</u>	41.1 ^{cd}	40.2 ^{de}	40.7
	Darram <u>b</u>	41.2 ^{cd}	38.7 ^{et}	39.9
	Firozabad	34.3 ⁱ	25.9 ^{m-o}	30.1
	Kermanshah	24.6 ^{o-q}	26.8 ^{lm}	25.7
	Roodbar	23.6 ^q	24.8 ^{n-q}	24.2
	Sari	25.4 ^{m-p}	17.4 ^{s-u}	21.4
	Shayban	31.9 ^j	24.0 ^{pq}	28.0
	Zanjan	33.9 ⁱ	19.6 ^f	26.8
Türkiye	Ankara	41.9 ^{bc}	29.8 ^k	35.9
	Aydın	31.3 ^{jk}	26.3 ^{mn}	28.8
	Bornova	36.9 ^{gh}	38.0 ^{fg}	37.4
	Cumaovası	23.8 ^q	24.5 ^{o-q}	24.1
	Manisa	33.9 ⁱ	28.2 ^l	31.0
	Menemen	58.8 ^a	43.4 ^b	51.1
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	36.0 ^h	18.2 ^{r-t}	27.1
Genel Ort.		31.6	26.9	29.3

Meryemana dikenini üzerine yapılan önceki çalışma sonuçları incelendiğinde de popülasyon ve lokasyonlar arasında bitki başına tohum verimi özelliği açısından farklılık olduğu izlenmektedir.

Koláčková and Růžicková (2013), meryemana dikeninin 15 popülasyonu üzerine iki farklı lokasyonda yaptıkları araştırma sonuçlarına göre, popülasyonlar ve lokasyonlar arasında bitki başına tohum verimi açısından istatistiki farklılık olduğu görülmektedir. Araştırmacılar aynı genetik kaynağından olan bitkilerden farklı lokasyonlarda farklı sonuçlar elde edildiğini ifade etmişlerdir. Bu araştırmada tek bitki verim ortalama değerleri birinci lokasyonda 1.11-17.56 g ve ikinci lokasyonda ise 8.64-31.50 g arasında değiştiği saptanmıştır. Denemeler karşılaştırıldığında Koláčková and Růžicková (2013) her iki lokasyonda da bizim denemenin her iki yılına göre daha az verime sahip olan popülasyonları da tespit etmişler. Ayrıca en yüksek verimler ise bizim elde ettiğimiz verimlerin içerisinde yer almaktadır.

Gresta et al., (2007), üç farklı bölgede yetiştirilmiş olan meryemana dikenini bitkilerini inceledikleri çalışma sonuçlarına göre, bölgeler arasında tek bitki verim özelliği açısından farklılık olduğunu belirlemişlerdir ve bu özelliğin ortalama değerleri 19.68-27.12 g arasında değişiklik göstermiştir. Bu sonuçlar İzmir

koşullarında elde edilen bizim verilerimizin içerisinde yer alıp, uyum sağlamaktadır.

4.1.23 Bin dane ağırlığı (g)

Türkiye ve İran orijinli Meryem ana dikeninin popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, İzmir ekolojik koşullarında iki yıl boyunca bin dane ağırlığı (g) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, bin dane ağırlığı ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında bin dane ağırlığı değerleri 18.2- 25.2 g arasında değişmiş ve en yüksek bin dane ağırlığı değeri Roodbar (25.2 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük bin dane ağırlığı değeri ise Sari (18.2 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında bin dane ağırlığı değerleri 19.8- 24.8 g arasında değişmiş ve en yüksek bin dane ağırlığı değeri Menemen (24.8 g) ve Ahvaz (24.8 g) popülasyonlarında saptanmıştır. En düşük bin dane ağırlığı değerleri ise Budakalaszi çeşidinde (19.8 g) belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek bin dane ağırlığı Roodbar popülasyonunda (25.2 g) 2014 yılında ve en düşük bin dane ağırlığı ise Sari popülasyonunda (18.2 g) yine 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Meryemana dikenini popülasyonlarına ait bin dane ağırlığı (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	24.1 ^{b-e}	24.8 ^{ab}	24.4
	Ardabil	22.2 ^{h-l}	22.0 ^l	22.1
	Damavand	22.0 ^l	23.9 ^{b-l}	22.9
	Darram <u>a</u>	22.5 ^{g-k}	22.9 ^{f-j}	22.7
	Darram <u>b</u>	22.6 ^{g-k}	23.3 ^{d-g}	23.0
	Firozabad	21.6 ^{k-n}	23.0 ^{f-j}	22.3
	Kermanshah	24.0 ^{b-f}	24.1 ^{b-e}	24.0
	Roodbar	25.2 ^a	23.8 ^{b-l}	24.5
	Sari	18.2 ^q	20.6 ^{no}	19.4
	Shayban	23.3 ^{d-g}	21.7 ^{k-m}	22.5
	Zanjan	22.1 ^{h-l}	23.1 ^{e-i}	22.6
Türkiye	Ankara	23.7 ^{b-f}	24.7 ^{a-c}	24.2
	Aydın	23.5 ^{d-g}	23.7 ^{c-f}	23.6
	Bornova	23.2 ^{e-h}	24.3 ^{a-d}	23.7
	Cumaovası	19.2 ^{pq}	20.7 ^{m-o}	19.9
	Manisa	20.8 ^{m-o}	22.6 ^{g-k}	21.7
	Menemen	23.3 ^{d-g}	24.8 ^{ab}	24.0
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	21.3 ^{l-n}	19.8 ^{op}	20.5
Genel Ort.		22.4	23.0	22.7

Meryemana dikenini popülasyonları üzerine yapılan önceki çalışmalarda da bin dane ağırlığı özelliğinde farklılık olduğu ispatlanmıştır.

Koláčková and Růžicková (2013), meryemana dikeninin 15 popülasyonu üzerine iki farklı lokasyonda yaptıkları araştırmada popülasyonların bin dane ağırlığı ortalama değerleri, birinci lokasyonda 16.17-24.53 g, ikinci lokasyonda ise 22.15-28.04 g arasında değişmiştir. İzmir koşullarında yürütmüş olduğumuz araştırmadan elde edilen sonuçları Koláčková and Růžicková (2013)'nın sonuçları ile karşılaştırdığımızda, bin dane ağırlığı ortalama değerlerimizin Koláčková and Růžicková (2013)'nın elde ettikleri değerler içerisinde yer aldığı ve uyum sağladığı söylenebilir. Ayrıca Koláčková and Růžicková (2013)'nın araştırmalarında bu özellik açısından denemeye tabi tuttıkları materyallerde daha büyük bir farklılık olduğu izlenmektedir.

Shokrpour et al., (2011), meryemana dikeninin 25 genotipinde yaptıkları inceleme sonucunda, bin dane ağırlığı ortalama değerlerinin genotipler arasında 15.13-22.74 g arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim verilerimiz ile karşılaştırıldığında, her iki deneme yılında da daha yüksek bin dane ağırlıkları elde ettiğimiz izlenmektedir.

4.1.24 Biyolojik verimi (g/bitki)

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ile tescilli Budakalaszi çeşidi, biyolojik verimi (g) yönünden iki yıl boyunca incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, biyolojik verim ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl×Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Biyolojik verimi değerleri 2014 yılında, 150.0- 428.2 g arasında değişmiş ve en yüksek biyolojik verim değeri Ardabil (428.2 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük biyolojik verim değeri ise Kermanshah (150.0 g) popülasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında, biyolojik verimi değerleri 91.4- 240.3 g arasında değişmiş ve en yüksek biyolojik verimi değeri Ardabil (240.3 g) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük biyolojik verim değerleri ise Firozabad (91.4 g) ve Zanzan (93.1 g) popülasyonlarında belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en yüksek biyolojik verim Ardabil popülasyonunda (428.2 g) 2014 yılında ve en düşük biyolojik verim ise Firozabad (91.4 g) ve Zanzan (93.1 g) popülasyonlarında 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Meryemana diken popülasyonlarına ait biyolojik verim (g) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	175.8 ^l	167.1 ^{mm}	171.4
	Ardabil	428.2 ^a	240.3 ^g	334.3
	Damavand	195.7 ^{jk}	135.6 ^p	165.6
	Darram <u>a</u>	275.5 ^e	219.5 ^{hi}	247.5
	Darram <u>b</u>	278.6 ^{de}	224.9 ^h	251.8
	Firozabad	248.1 ^g	91.4 ^t	169.7
	Kermanshah	150.0 ^o	137.2 ^p	143.6
	Roodbar	161.7 ⁿ	124.5 ^q	143.1
	Sari	347.5 ^c	98.6 st	223.0
	Shayban	242.7 ^g	173.5 ^{lm}	208.1
	Zanzan	193.4 ^k	93.1 ^t	143.2
Türkiye	Ankara	271.4 ^{ef}	108.8 ^r	190.1
	Aydın	159.7 ⁿ	105.7 ^{rs}	132.7
	Bornova	243.5 ^g	187.9 ^k	215.7
	Cumaovası	266.9 ⁱ	201.3 ^j	234.1
	Manisa	266.1 ^f	146.3 ^o	206.2
	Menemen	356.1 ^b	216.6 ⁱ	286.3
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	286.1 ^d	109.4 ^r	197.7
Genel Ort.		252.6	154.5	203.6

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, biolojik verim parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.25 Çiçekte diken uzunluğu (cm)

Türkiye ve İran orijinli Meryemana diken popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi Bornova ekolojik koşullarında çiçekte diken uzunluğu (cm) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında çiçekte diken uzunluğu ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl ve Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında, çiçekte diken uzunluğu değerleri 3.1- 4.9 cm arasında değişmiş ve en yüksek çiçekte diken uzunluğu değerine Aydın (4.9 cm) popülasyonunda ulaşılmıştır. En düşük çiçekte diken uzunluğu değeri ise Budakalaszi çeşidinde (3.1 cm) belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında, çiçekte diken uzunluğu değerleri 2.7- 4.3 cm arasında değişmiş ve en yüksek çiçekte diken uzunluğu değeri Aydın (4.3 cm) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük çiçekte diken uzunluğu değeri ise Budakalaszi çeşidinde (2.7 cm) belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında çiçekte en yüksek diken uzunluğu Aydın popülasyonunda (4.9 cm) 2014 yılında ve çiçekte en düşük diken uzunluğu ise Budakalaszi çeşidinde (2.7 cm) 2015 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Meryem ana dikenini popülasyonlarına ait çiçekte diken uzunluğu (cm) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	3.3 ^{h-l}	3.3 ^{h-l}	3.3
	Ardabil	3.2 ^{k-m}	3.0 ^{lm}	3.1
	Damavand	3.3 ^{h-m}	3.2 ^{j-m}	3.2
	Darram <u>a</u>	3.2 ^{j-m}	3.2 ^{j-m}	3.2
	Darram <u>b</u>	3.2 ^{i-m}	3.3 ^{g-l}	3.3
	Firozabad	3.4 ^{f-k}	3.3 ^{g-l}	3.4
	Kermanshah	3.7 ^{c-e}	3.7 ^{c-f}	3.7
	Roodbar	3.5 ^{c-i}	3.6 ^{c-g}	3.6
	Sari	3.2 ^{i-m}	3.3 ^{h-m}	3.3
	Shayban	3.2 ^{k-m}	3.0 ^m	3.1
	Zanjan	3.5 ^{e-k}	3.2 ^{j-m}	3.3
Türkiye	Ankara	3.5 ^{e-k}	3.2 ^{j-m}	3.3
	Aydın	4.9 ^a	4.3 ^b	4.6
	Bornova	3.8 ^c	3.8 ^{cd}	3.8
	Cumaovası	3.6 ^{c-h}	3.2 ^{j-m}	3.4
	Manisa	3.4 ^{e-k}	3.6 ^{c-h}	3.5
	Menemen	3.6 ^{c-g}	3.5 ^{d-j}	3.6
	Tescilli Çeşit	3.1 ^{lm}	2.7 ⁿ	2.9
Genel Ort.		3.5	3.4	3.4

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, çiçekte diken uzunluğu parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılmamıştır.

4.1.26 Dane verimi (kg/da)

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi, dane verimi (kg/da) yönünden iki yıl boyunca incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında, dane verimi ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl×Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında dane verimi değerleri 63.48- 238.47 kg/da arasında değişmiş ve en yüksek dane verimi değeri Menemen (238.47 kg/da) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük dane verimi değeri ise Ardabil ve Ahvaz popülasyonlarında (sırayla 63.48 ve 68.92 kg/da) belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında, dane verimi değerleri 62.95- 159.25 kg/da arasında değişmiş ve en yüksek dane verimi değeri Bornova (159.25 kg/da) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük dane verimi değeri ise Budakalaszi (62.95 kg/da) çeşidinde belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, deneme yıllarında en yüksek dane verimi Menemen popülasyonunda (238.47

kg/da) 2014 yılında ve en düşük dane verim ise Ardabil (63.48 kg/da) popülasyonunda ve Budakalaszi (62.95 kg/da) çeşidinde sırayla 2014 ve 2015 yıllarında elde edilmiştir (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait dane verimi (kg/da) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	68.92 ^{rs}	73.97 ^{o-s}	71.45
	Ardabil	63.48 ^s	105.26 ^{t-n}	84.37
	Damavand	78.86 ^{n-s}	87.20 ^{l-s}	83.03
	Darram <u>a</u>	170.19 ^{bc}	133.68 ^{e-i}	151.94
	Darram <u>b</u>	168.15 ^{bcd}	143.42 ^{c-g}	155.79
	Firozabad	141.58 ^{d-g}	84.85 ^{l-s}	113.21
	Kermanshah	101.68 ^{l-o}	96.67 ^{k-r}	99.18
	Roodbar	96.82 ^{k-q}	108.99 ^{i-m}	102.90
	Sari	105.39 ^{l-n}	72.79 ^{qr}	89.09
	Shayban	129.01 ^{f-j}	73.70 ^{p-s}	101.35
	Zanjan	138.53 ^{e-h}	95.07 ^{l-r}	116.80
Türkiye	Ankara	172.11 ^b	100.95 ^{k-p}	136.53
	Aydın	123.58 ^{g-k}	89.95 ^{l-s}	106.76
	Bornova	152.02 ^{b-f}	159.25 ^{b-e}	155.64
	Cumaovası	97.97 ^{k-q}	82.04 ^{m-s}	90.00
	Manisa	139.21 ^{efg}	110.89 ^{h-l}	125.05
	Menemen	238.47 ^a	142.69 ^{c-g}	190.58
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	146.39 ^{b-g}	62.95 ^s	104.67
Genel Ort.		129.58	101.35	115.46

Geneva et al. (2008), meryemana dikenli üzerine yaptıkları yaprak gübrelemesinin verim komponentleri üzerine olan etkisi konulu araştırmada, denemenin birinci yılında kontrol ve gübrelemeye tabi tutulan bitkilerin dane verim ortalama değerlerinin 86.95- 245.69 g/m² (86.95- 245.69 kg/da), ikinci yılında ise 147.60- 260.76 g/m² (147.60- 260.76 kg/da) olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmada kullanılan bitki materyalinin kontrol ve farklı gübrelemelerden elde edilen dekar başına verim ortalama değerlerini, bizim sonuçlarımız ile karşılaştırdığımızda, denemenin birinci ve ikinci senelerinde en düşük değerlerimizin Geneva et al. (2008)'ın en düşük verilerinin altında olduğu görülmektedir. Ayrıca denemenin her iki yılında da elde ettiğimiz dekar başına en yüksek dane verilerimiz Geneva et al. (2008)'ın elde ettikleri değerlerin içerisinde yer aldıkları görülmektedir.

Shokrpour et al., (2011), İran'da, meryemana dikeninin 25 genotipi üzerinde yürüttükleri araştırmada, dane verim ortalama değerleri genotipler arasında 889.58- 2416.67 kg/ha (88.96- 241.67 kg/da) aralığında değiştiğini

bulmuşlardır. Bu araştırmada elde edilen dekar başına verim ortalama değerlerini bizim araştırmanın değerleri ile karşılaştırdığımızda, denemenin birinci ve ikinci senelerinde en düşük değerlerimizin Shokrpour et al., (2011)'ın en düşük verilerinin altında olduğu görülmektedir. Ayrıca denemenin her iki yılında da elde ettiğimiz dekar başına en yüksek dane verilerimiz bu araştırmanın değerler içerisinde yer aldıkları ve uyum sağladıkları görülmektedir.

Shokrpour et al., (2007 a), İran orijinli meryemana dikenini popülasyonları üzerine yaptıkları çalışmada, İran'ın güney batısına ait olan popülasyonlarda dane verimleri 68.39-108.33 kg/da aralığında değişmiştir. Bu araştırma sonuçlarını İzmir Bornova koşullarında yürütmüş olduğumuz araştırma sonuçlarıyla karşılaştırdığımızda, Shokrpour et al., (2007 a)'ın elde ettikleri dane verim değerleri bizim araştırmamızdan elde edilen verilerin içerisinde yer almaktadır. Ayrıca bizim araştırma sonuçlarımızın Shokrpour et al., (2007 a)'ın araştırmalarından elde ettikleri dekar başına dane verim değerleri açısından daha geniş bir varyasyon gösterdiği izlenmektedir.

Ram et al., (2005), İtalya'da meryemana dikeninin 15 genotipi üzerine yaptıkları araştırma sonucunda, dane verimlerini genotipler arasında 49.50-251.39 kg/da aralığında değiştiğini saptamışlardır. Sonuçlar karşılaştırıldığında, bizim araştırmamızdan elde edilen değerlerin Ram et al., (2005)'ın araştırmalarından elde edilen verilerin sınırları içerisinde yer aldığı ve uyum sağladığı ifade edilebilir.

Katar et al., (2013), Türkiye'de, meryemana dikeninde ekim sıklığının gelişme ve verim komponentleri üzerine olan etkisini inceleme amacıyla yürüttükleri iki yıllık çalışmada, denemenin birinci yılında dane verimi değerlerinin 20.65- 77.26 kg/ha (2.07- 7.73 kg/da), ikinci yılında ise 16.79- 89.00 kg/ha (1.68- 8.90 kg/da) aralıklarında değiştiğini saptamışlardır. Katar et al., (2013)'ın Ankara koşullarında yürüttükleri denemeden elde edilen dane verim değerlerini bizim İzmir Bornova koşullarında iki yıllık denemeden elde ettiğimiz dane verim değerleri ile karşılaştırdığımızda, bizim denemeden elde edilen dekar başına en düşük dane verim değerleri Katar et al., (2013)'ın elde ettikleri dekar başına en yüksek dane verimi değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Andrzejewska and Sadowska (2008), meryemana dikenini bitkisinde yetiştirme koşullarının verim ve kalite üzerine olan etkileri konulu çalışmada, dane verim değerleri 0.55- 1.89 ton/ha (55.00 189.00 kg/da) aralığında

bulunmuştur. Diğer bir araştırmada, Andrzejewska et al., (2011), meryemana dikeninde ekim tarihi ve sıklığının verim ve flavonolignan içeriği üzerine olan etkileri konulu üç yıllık bir çalışmada dane verim değerlerini 0.55- 1.68 ton/ha (55.00 168.00 kg/da) aralığında olduğunu saptamışlardır. Bu iki araştırmadan elde edilen dane verim değerlerini bizim denemenin dane verim değerleri ile karşılaştırdığımızda, denememizin birinci senesinde dekar başına daha yüksek dane verim değerleri elde edildiği görülmektedir. Ayrıca denemenin ikinci yılından elde edilen dekar başına dane verim değerleri Andrzejewska and Sadowska (2008)'nın elde ettiği değerlerin içerisinde yer almış ve uyum sağlamıştır.

4.1.27 Hasat indeksi (HI)

Bornova ekolojik koşullarında Meryemana dikeninin Türkiye ve İran orijinli popülasyonları ve tescilli çeşit olan Budakalaszi, hasat indeksi (HI) yönünden incelenmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda popülasyonlar arasında hasat indeksi ortalama değerlerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popülasyon ve Yıl× Popülasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında, hasat indeksi değerleri %3.6- 17.5 arasında değişmiş ve en yüksek hasat indeksi değeri Zanjan (%17.5) popülasyonunda saptanmıştır. En düşük hasat indeksi değeri ise Ardabil popülasyonunda (%3.6) belirlenmiştir. Ayrıca 2015 yılında, hasat indeksi değerleri %6.6- 28.3 arasında değişmiş ve en yüksek hasat indeksi değerine Firozabad (%28.3) ve Ankara (%27.9) popülasyonlarında rastlanmıştır. En düşük hasat indeksi değeri ise Ardabil (%6.6) popülasyonunda belirlenmiştir. Değerlendirmeler sonucuna dayanarak, deneme yıllarında en yüksek hasat indeksi Firoozabad (%28.3) ve Ankara (%27.9) popülasyonlarında 2015 yılında ve en düşük hasat indeksi ise Ardabil popülasyonunda (%3.6) 2014 yılında elde edilmiştir (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait hasat indeksi (%) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	9.5 ^r	11.4 ^q	10.4
	Ardabil	3.6 ^t	6.6 ^s	5.1
	Damavand	9.7 ^r	17.9 ^{gh}	13.8
	Darram <u>a</u>	14.9 ^{kl}	18.5 ^{tg}	16.7
	Darram <u>b</u>	14.8 ^{kl}	17.3 ^{hi}	16.0
	Firozabad	13.8 ^{mn}	28.3 ^a	21.1
	Kermanshah	16.4 ^j	19.7 ^{de}	18.0
	Roodbar	14.6 ^{lm}	20.2 ^{cd}	17.4
	Sari	7.3 ^s	17.7 ^{gh}	12.5
	Shayban	13.2 ^{no}	13.9 ^{mn}	13.5
	Zanjan	17.5 ^h	21.0 ^c	19.3
Türkiye	Ankara	15.4 ^k	27.9 ^a	21.7
	Aydın	19.6 ^{de}	25.2 ^b	22.4
	Bornova	15.2 ^{kl}	20.4 ^{cd}	17.8
	Cumaovası	8.9 ^r	12.1 ^{pq}	10.5
	Manisa	12.7 ^{op}	19.2 ^{ef}	15.9
	Menemen	16.5 ^{ij}	19.9 ^{de}	18.2
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	12.6 ^{op}	16.7 ^{ij}	14.6
Genel Ort.		13.1	18.5	15.8

Yapılan literatür incelemesi sonucunda, hasat indeksi parametresi ile ilgili daha önce yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından bu karakter tartışılamamıştır.

4.2 Fitokimyasal Analizler

Bu başlık altında silymarin oranı (%) ve silymarin verimi (kg/da) sunulmuştur.

4.2.1 Silymarin oranı (%)

Türkiye ve İran'ın 16 farklı bölgesinden toplanmış olan toplam 17 Meryemana dikenî popülasyonunun tohumları, tescilli Budakalaszi çeşidi ile birlikte Sokslet apareyinde analiz edilmiştir. Silymarin ekstraksiyonu sonucuna göre, Silymarin oranı açısından popülasyonlar arasında farklılık olduğu saptanmıştır. Silymarin ekstraksiyonu sonucuna göre, doğal ortamlarından toplanmış olan tohumların en yüksek silymarin oranı İran kökenli Kermanshah popülasyonunda (%12.2) saptanmıştır. En düşük silymarin oranı ise İran kökenli

Roodbar popülasyonunda %6.9 bulunmuştur. Doğadan toplanmış olan tohumlar iki sene tarla koşullarında yetiştirilmiş ve elde edilen tohumların ekstreksiyonu sonucunda; denemenin her iki yılında da en yüksek silymarin oranına Kermanshah popülasyonu ulaşmıştır. Denemenin ilk yılında en yüksek silymarin oranı %11.6 ve ikinci yılda ise %11.5 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tarla koşullarında yürütülmüş olan denemenin ilk yılında (2013- 2014) en düşük silymarin oranı %7.5 değerinde İran kökenli Firoozabad popülasyonunda, ikinci yılında (2014- 2015) ise %8.8 değerinde yine İran kökenli Shayban popülasyonunda saptanmıştır. Elde edilen sonuçları ülke bazında incelediğimizde, silymarin oranı açısından incelemeye alınmış olan popülasyonlarda, Türkiye kökenli popülasyonlarda daha yüksek bir homojenlik olduğu görülmektedir. Türkiye kökenli popülasyonlarda silymarin oranı değerleri %11.0-%11.9 arasında izlenmiştir. Ayrıca İran kökenli popülasyonları da silymarin açısında incelediğimizde popülasyonlar arasında daha büyük bir farklılık ve heterojenlik olduğu görülmüştür. İran popülasyonlarında bu değer %6.9 ile %12.2 arasında değişmiştir. İran popülasyonlarında izlenen bu büyük farklılığı örnekleri daha geniş bir coğrafyadan (rakım, enlem ve boylam açısından) toplanmasıyla açıklayabiliriz. Benzer bir şekilde de Türkiye kökenli popülasyonların homojenliğinde tohumların daha yakın bölgelerden elde edilmesiyle ifade edebiliriz. Ayrıca beyaz çiçeklere sahip olan Darram b popülasyonunda silymarin oranı doğadan toplanmış olan tohumlarda %11.0 denemenin ilk yılında %10.8 ve ikinci yılında ise %9.8 olduğu saptanmıştır. Doğal ortamda toplanmış olan popülasyonlardan Roodbar popülasyonunda silymarin oranının düşük olmasının nedenini de örneklerin olgunlaştıktan sonra daha geç bir sürede toplanmasından kaynaklanabildiğini ifade edebiliriz. Deneme yıllarını incelediğimizde ve elde edilen sonuçlara baktığımızda, silymarin oranına popülasyonların yetiştigi iklimin çok etkisi olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca doğal ortamlardan toplanmış olan popülasyon örneklerindeki silymarin oranlarının, literatürlerin çoğunda yazılmış olan oranların üstünde oldukları izlenmektedir. Deneme yıllarında da silymarin oranları literatürlere göre daha yüksek olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Meryemana dikenî popülasyonlarına ait silymarin oranı (%) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	Doğal ortam	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	11.4 ^{ef}	10.6 ^{pq}	10.3 ^{s-v}	10.8
	Ardabil	11.1 ^{g-i}	10.8 ^{u-p}	10.5 ^{qr}	10.8
	Damavand	9.8 ^{a1b1}	10.9 ^{k-n}	9.7 ^{b1}	10.1
	Darram <u>a</u>	11.7 ^c	10.7 ^{o-q}	10.2 ^{wx}	10.9
	Darram <u>b</u>	11.0 ^{-l}	10.8 ^{m-p}	9.8 ^{zb1}	10.5
	Firozabad	10.8 ^{-o}	7.5 ^{e1}	10.6 ^{o-q}	9.6
	Kermanshah	12.2 ^a	11.6 ^{cd}	11.5 ^{de}	11.8
	Roodbar	6.9 ^{fl}	10.8 ^{u-p}	10.2 ^{v-x}	9.3
	Sari	10.9 ^{-m}	10.2 ^{wx}	10.4 ^{s-u}	10.5
	Shayban	10.9 ^{-m}	10.3 ^{u-w}	8.8 ^{d1}	10.0
	Zanjan	10.4 ^{-t}	10.8 ^{-p}	9.8 ^{b1}	10.3
Türkiye	Ankara	11.0 ^{-k}	10.4 ^{rs}	9.8 ^{zb1}	10.4
	Aydın	11.2 ^{g-i}	9.9 ^{ya1}	10.5 ^{rs}	10.5
	Bornova	11.9 ^b	11.0 ^{-k}	10.2 ^{u-w}	11.1
	Cumaovası	11.2 ^{f-h}	10.3 ^{t-w}	10.1 ^{xy}	10.5
	Manisa	11.1 ^{h-j}	9.8 ^{b1}	10.0 ^{yz}	10.3
	Menemen	11.3 ^{fg}	10.8 ^{u-p}	10.1 ^{xy}	10.7
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	10.8 ^{u-p}	9.1 ^{cl}	10.4 ^{s-u}	10.1
Genel Ort.		10.9	10.3	10.1	10.5

Meryemana dikenî üzerine yapılmış olan çeşitli araştırmalar sonucunda, silymarin oranında büyük değişiklikler gözlenmiştir.

Geneva et al., (2008), Bulgaristan'da, meryemana dikenî bitkisi üzerine yaptıkları yapraktan gübreleme araştırmasının sonucunda, varyantlar arasında silymarin oranının %0.6-5.88 aralığında değiştiğini saptamışlardır.

Carrier et al., (2003), Kanada'da, meryemana dikenî bitkisinde yetiştirme süreci ve hasat zamanının silymarin oranı üzerine olan etkisini inceledikleri çalışmada, en olgun tohumlarda silymarin oranını %2.36-2.92 olarak bulmuşlardır.

Hevia et al., (2007), Şili'de, meryemana dikenî bitkisinde en uygun hasat zamanını belirleme amacıyla yürüttükleri çalışmada, iki farklı genotipde silymarin oranının %3.7-5.7 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Ram et al., (2005), Hindistan'da, inceledikleri 15 meryemana dikenî popülasyonunda silymarin oranlarını %2-3.56 olarak tespit etmişlerdir.

Yeni Zelanda'da, Martin et al., (2006), 25 meryemana dikenî ekotipleri

üzerine yaptıkları araştırmada, silymarin oranları ekotipler arasında %1.03 ile %4.27 arasında değişmiştir.

Kozera and Nowak, (2004), Polonya’da, meryemana dikenini bitkisi üzerine yürüttükleri gübre denemesinde (NPK ve mikroelementler) silymarin oranlarının muameleler arasında %1.91-2.89 değiştiğini saptamışlardır. Polonya’da yapılmış olan diğer bir denemede, Andrzejewska et al., (2011), *S. marianum* L. da, verim ve kalite üzerine ekim zamanı ve sıklığının etkisini araştırmışlardır. İnceleme sonucunda silymarin oranlarını %1.65-2.48 olarak bulmuşlardır. Aynı araştırmacı tarafından yürütülmüş olan diğer bir araştırmada ise silymarin oranları %2.18 ile %3.10 aralığında kaydedilmiştir (Andrzejewska and Sadowska, 2008).

AbuZid et al., (2016), Mısır’ın farklı bölgelerinden toplanmış olan meryemana dikeninin 16 popülasyonunda silymarin oranı ve kalitesi açısından olan farklılıkları inceledikleri çalışmada, silymarin oranının en düşük %0.06, en yüksek ise %2.19 olduğunu saptamışlardır.

İran’da *S. marianum* L. üzerinde bugüne kadar yapılmış olan çeşitli araştırma sonuçlarına göre farklı silymarin oranları (%) elde edilmiştir.

Hasanloo et al., (2005), İran’ın farklı bölgelerinden toplanmış olan meryemana dikenini popülasyonlarında silymarin oranlarını popülasyonlar arasında %0.91-2.34 olarak belirlemişlerdir.

Shokrpour et al., (2008), İran orijinli meryemana dikeninin 32 ekotipinde silymarin oranını %1.44-1.52 bulmuşlardır. Ghavami and Ramin (2008) ise *S. marianum* L.’de yürüttükleri tuzluluk stresi denemesi sonucunda silymarin oranının muameleler arasında %5.9 ile %10.2 aralığında değiştiğini ifade etmişlerdir.

Katar et al., (2013), Türkiyede, meryemana dikenini bitkisi üzerine yaptıkları ekim sıklığıyla ilgili iki senelik denemede, silymarin oranını % 1.7 bulmuşlardır. Deneme yılları ve sıklıklar arasında silymarin oranı açısından anlamlı bir farklılık olmadığını belilemişlerdir.

Yaptığımız araştırmanın sonuçlarını önceki çalışmalarla karşılaştırdığımızda, önceki çalışmalara göre daha yüksek silymarin oranı elde edildiği izlenmektedir. Ancak Gavami and Ramin (2008)’in, çalışmalarında elde edilen en yüksek silymarin oranları yaptığımız araştırmadan elde edilen silymarin oranı değerleri içerisinde yer almakta ve uyum sağlamaktadır. Ayrıca İran ve Polonya gibi ülkelerde *S. marianum* L. üzerine yapılmış olan araştırmalar

sonucunda, benzer orijinli popülasyonlar veya deneme materyali kullanıldığında bile farklı silymarin oranlarının (%) elde edildiği görülmektedir. Bu bakımdan iklimin silymarin oranı üzerine anlamlı bir şekilde etkisi olduğunu söylemek mümkündür.

Bugüne kadar meryemana dikenini bitkisi üzerine yürütölmüş olan inceleyebildiğimiz bazı araştırmaların literatür taraması sonucuna dayanarak, İzmir (Bornova) koşullarında yapılmış olan bu denemede kullanılan materyallerden daha yüksek silymarin oranı elde edildiği görölmektedir. Ayrıca elde edilen sonuçlara dayanarak İzmir (Bornova)'ın en yüksek silymarin oranı elde edilebilmesi için uygun iklime sahip olduğu ifade edilebilir. Ayrıca bu araştırmadan silymarin oranı açısından elde edilen sonuçların daha önce yapılmış olan araştırmaların çoğundan anlamlı olarak daha yüksek olduğunu söylemek mümkündür.

4.2.2 Silymarin verimi (kg/da)

Meryemana dikeninin, Türkiye ve İran orijinli popölasyonları ile tescilli Budakalaszi çeşidi, silymarin verimi (kg/da) yönünden İzmir ekolojik koşullarında iki yıl boyunca incelenmişlerdir. Yapılan değeriendirmeler sonucunda popölasyonlar arasında, silymarin verimi ortalama değerilerinde, istatistiki açıdan (Yıl, Popölasyon ve Yıl× Popölasyon) önemli farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). 2014 yılında silymarin verimi değeri 6.86-25.75 kg/da arasında değerişmiş ve en yüksek silymarin verim değeri Menemen (25.75 kg/da) popölasyonunda saptanmıştır. En düşük silymarin verimi değeri ise Ardabil (6.86 kg/da) popölasyonunda belirlenmiştir. Ayrıca denemenin ikinci yılında, silymarin verimi değeri 6.49-16.24 kg/da arasında değerişmiş ve en yüksek silymarin verim değeri Bornova (16.24 kg/da) popölasyonunda saptanmıştır. En düşük silymarin verimi değeri ise Shayban (6.49 kg/da) popölasyonu ve Budakalaszi (6.55 kg/da) çeşidinde belirlenmiştir. Sonuçlar genel olarak değeriendirildiğinde, deneme yıllarında en yüksek silymarin verim değeri Menemen popölasyonunda (25.75 kg/da) denemenin birinci yılından ve en düşük bitki başına silymarin verim değeri Shayban (6.49 kg/da) popölasyonu ve Budakalaszi (6.55 kg/da) çeşidinde denemenin ikinci yılından elde edilmiştir (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Meryemana dikenli popülasyonlarına ait silymarin verimi (kg/da) ortalamaları.

Orijin	Popülasyonlar	2013-2014	2014-2015	Ort.
İran	Ahvaz	7.31m-p	7.62m-p	7.46
	Ardabil	6.86nop	11.05g-l	8.95
	Damavand	8.60k-p	8.46k-p	8.53
	Darram <u>a</u>	18.21b	13.64d-g	15.92
	Darram <u>b</u>	18.16b	14.06c-f	16.11
	Firozabad	10.62h-l	8.99j-p	9.81
	Kermanshah	11.80f-j	11.12g-k	11.46
	Roodbar	10.46i-l	11.12g-k	10.79
	Sari	10.75h-l	7.57m-p	9.16
	Shayban	13.29e-h	6.49p	9.89
	Zanjan	14.96cde	9.32j-o	12.14
Türkiye	Ankara	17.90b	9.89i-m	13.90
	Aydın	12.23e-i	9.44i-n	10.84
	Bornova	16.72bc	16.24bcd	16.48
	Cumaovası	10.09i-m	8.29l-p	9.19
	Manisa	13.64d-g	11.09g-l	12.37
	Menemen	25.75a	14.41c-f	20.08
Tescilli Çeşit	Budakalaszi	13.32e-h	6.55op	9.93
Genel Ort.		13.37	10.30	11.83

Geneva et al., (2008), yaptıkları gübre uygulaması sonuçlarına göre, dekar başına silymarin verimi kontrol ve gübre uygulaması altında olan bitkiler arasında denemenin ilk yılında 0.83-5.33 kg/da, denemenin ikinci yılında ise 8.45-14.65 kg/da aralığında değişmiştir. Bu denemenin sonuçlarını İzmir Bornova koşullarında yaptığımız popülasyon denemesi ile karşılaştırdığımızda, Geneva et al., (2008)'ın denemelerinin birinci senesinden elde edilen en yüksek dekar başına silymarin verim değerleri bizim denemenin her iki yılından da elde edilen en düşük değerlerin altında oldukları izlenmiştir. Ayrıca Geneva et al., (2008)'ın denemesinin ikinci senesinden elde edilen dekar başına silymarin verimi değerleri bizim denemeden elde edilen verilerin içerisinde yer alıp ve uyum sağlamaktadır.

Shokrpour et al., (2007 a ve b), İran orijinli meryemana dikenli ekotiplerinde yaptıkları araştırmada, dekar başına silymarin verimi İran'ın kuzeybatısına ait olan ekotipler arasında 1.77-2.86 kg/da ve İran'ın güneybatısına ait olan ekotiplerde ise bu değer 0.79-2.04 kg/da aralığında değiştiğini saptamışlardır. Bu denemeden elde edilen silymarin verimi değerlerini Türkiye'de yürütülmüş olan araştırmamızdan elde edilen değerler ile karşılaştırdığımızda, bizim çalışmamızın her iki senesinden de elde edilen en düşük silymarin verim değerlerinin Shokrpour et al., (2007 a ve b)'ın elde ettikleri en yüksek silymarin verim değerlerinin de üstünde olduğu izlenmektedir.

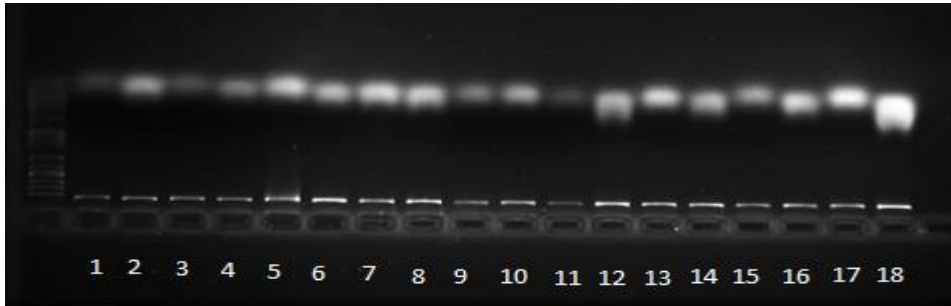
Ram et al., (2005), İtalya’da meryemana dikeninin 15 genotipi üzerine yaptıkları araştırma sonucunda, silymarin veriminin genotipler arasında 1.15-8.95 kg/da aralığında olduğunu saptamışlardır. Bizim araştırmamızdan elde edilen verilerin Ram et al., (2005)’in araştırmasında kaydedilen değerlerden genel olarak daha yüksek olduğu gözlenmektedir.

Katar et al., (2013), Türkiye’de, meryemana dikeninde ekim sıklığının gelişme ve verim komponentleri üzerine olan etkisini inceleme amacıyla yürüttükleri iki yıllık çalışmada, denemenin birinci yılında silymarin verimi değerleri 0.04-0.13 kg/da, ikinci yılında ise 0.03-0.16 kg/da aralıklarında değiştiğini saptamışlardır. Katar et al., (2013)’in Ankara koşullarında yürüttükleri denemeden elde edilen silymarin verim değerlerini, İzmir Bornova koşullarında iki yıllık denemeden elde ettiğimiz silymarin verim değerleri ile karşılaştırdığımızda, bizim denemeden elde edilen dekar başına en düşük silymarin verim değerleri Katar et al., (2013)’in elde ettikleri dekar başına en yüksek silymarin verim değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

4.3 Moleküler Analizler

4.3.1 DNA saflık sonuçları

Moleküler çalışmaların ilk aşaması olarak ve PCR reaksiyonunda kullanılmış olan DNA’ların izolasyonu sonucunda 17 meryemana dikenini bireyinde ve tescilli çeşit Budakalaszi’nin DNA örneğine ait DNA’lar agaroz jel elektroforezinde yürütülerek saflık görüntülerine bakılmış ve DNA kalitesi belirlenmiştir. Agaroz jel elektroforezi sonucu elde edilen DNA saflık görüntüleri Şekil 4.1’de gösterilmektedir.



Şekil 4.1 DNA örneklerinin saflıklarının belirlendiği agaroz jel elektroforezi görüntüsü

4.3.2 iPBS Markör Analizi Sonuçları

Denemede Meryemana dikenli popülasyonlarının arasında olan DNA Polimorfizminin belirlenmesi için kullanılan 13 iPBS primerinin PCR sonucunda toplam 93 bant ve bunların arasından 35 Polimorfik bant (%37.63) saptanmıştır. En çok çoğaltılmış banta sahip olan 2075 iPBS primeri (11 adet bant), en düşük olan ise 2380 ve 2395 iPBS primerleri (dört adet bant) belirlenmiştir. En çok polimorfik bant sayısını üreten 2075 ve 2392 no'lu iPBS primerleri olduğu belirlenmiştir (polimorfik bant sayısı 5). En düşük polimorfik bant sayısı ise 2074, 2270, 2272, 2380, 2391, 2394, 2395 ve 2419 no'lu iPBS primerlerinden elde edilmiştir (Çizelge 4.31).

4.3.3 PIC değerleri

PIC değeri, genetik çalışmalarda polimorfizmin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır (Shete et al., 2000). iPBS markör analizinde kullanılan primerlerin PIC değerleri hesaplanmıştır. PIC değerleri Çizelge 4.31'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.31'e göre, en yüksek PIC değeri iPBS-2391 primer kullanıldığında 0.72 olarak, en düşük PIC değeri ise 0.31 olarak iPBS-2415 primer kullanıldığında elde edilmiştir. Tüm primerleri temsil eden ortalama PIC değeri ise 0.50 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.31. Araştırmada incelenen meryem ana dikenli popülasyonlarına ait moleküler analizlerden (iPBS markör) elde edilen polimorfik oranı (%)

Primer No.	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik bant Sayısı	Polimorfik Oranı (%)	PIC Değeri
2074	8	2	25.00	0.39
2075	11	5	45.45	0.41
2087	7	3	42.86	0.63
2270	8	2	25.00	0.67
2272	9	2	22.22	0.42
2380	4	2	50.00	0.39
2389	10	3	30.00	0.59
2391	7	2	28.57	0.72
2392	7	5	71.43	0.58
2394	6	2	33.33	0.50
2395	4	2	50.00	0.61
2401	6	3	50.00	0.33
2415	6	2	33.33	0.31
Total	93	35	37.63	6.54

4.3.4 Genetik yakınlığın belirlenmesi

Bu araştırmada iPBS markörlerinden elde edilen polimorfik bantlara Principal Component analizi yapılmıştır (Li and Quiros, 2001). Buna göre yapılan faktör analizi sonucu öz değeri 1'in üzerinde olan üç faktör grubu oluşturmuştur. Oluşan faktör grupları toplam varyasyonun % 75.80'ini ($r=0.68$) temsil etmektedir. Faktör grupları Çizelge 4.32'te verilmiştir.

Ayrıca iPBS verileri kullanılarak Jaccard benzerlik katsayısına göre NTSYS programında yapılan analize göre meryemana dikenli popülasyonları aralarındaki genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.33'de belirtilmiştir. Benzerlik değerleri incelendiğinde; popülasyonlarda birbirine en yakın popülasyonların 8 (Roodbar) ile 9 (Sari) olduğu belirlenmiştir ve aralarındaki benzerlik değerinin 0.89 olduğu görülmektedir. Popülasyonlar arasında en uzak popülasyonlar ise 4 (Darram a) ile 12 (Ankara) olduğu ve aralarındaki benzerlik değerlerinin 0.16 olduğu görülmektedir. Meryemana dikenli popülasyonları arasındaki genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.33'de sunulmuştur.

NTSYS programında UPGMA metoduna göre çizilen dendrogram Şekil 4.2'de verilmiştir. iPBS analizleri sonucu oluşturulan dendrogram incelendiğinde, popülasyonlar arasındaki genetik benzerlik oranının 0.48 ile 0.95 arasında değiştiği görülmüştür.

Çizelge 4.32 iPBS markör analizleri sonucu oluşan faktör grupları

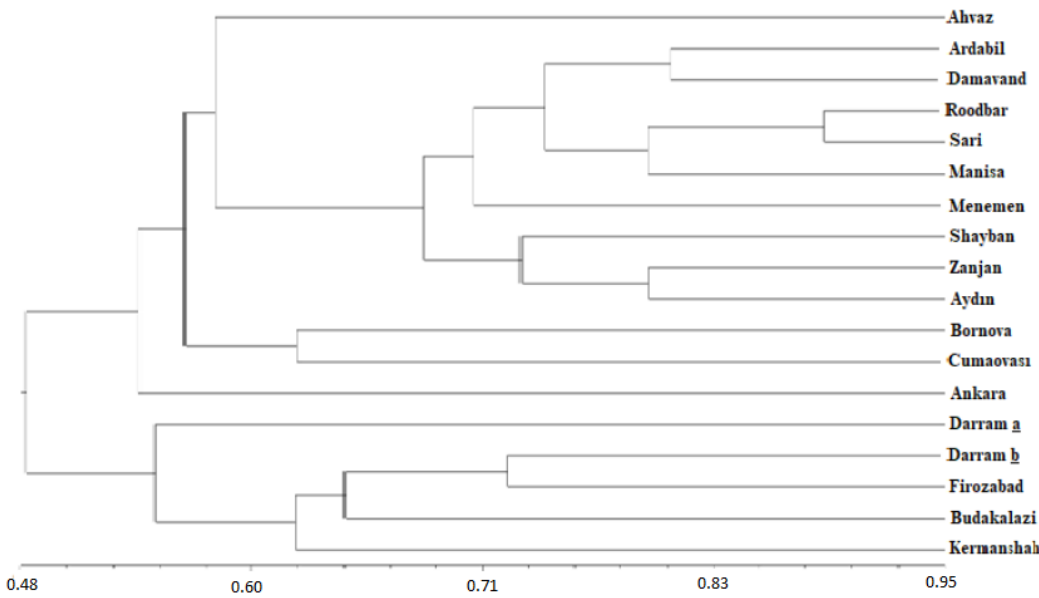
		Açıkladığı varyasyon	
PC eksenleri	Özdeğer	% Açıkladığı varyasyon	Kümülatif varyasyon %
1	10.81	60.05	60.05
2	1.66	9.23	69.27
3	1.17	6.52	75.80

Çizelge 4.33. Meryemana dikenî popülasyonlarında iPBS primerlerine ait PIC değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1																	
2	0.79	1																
3	0.69	0.69	1															
4	0.18	0.25	0.81	1														
5	0.57	0.61	0.64	0.52	1													
6	0.57	0.67	0.76	0.58	0.50	1												
7	0.58	0.54	0.61	0.50	0.53	0.73	1											
8	0.60	0.77	0.83	0.49	0.53	0.72	0.69	1										
9	0.53	0.72	0.79	0.47	0.52	0.67	0.72	0.89	1									
10	0.71	0.61	0.70	0.33	0.43	0.61	0.67	0.76	0.89	1								
11	0.54	0.62	0.70	0.36	0.52	0.56	0.56	0.79	0.76	0.76	1							
12	0.48	0.39	0.53	0.16	0.33	0.45	0.44	0.51	0.71	0.60	0.76	1						
13	0.47	0.56	0.56	0.27	0.35	0.56	0.50	0.76	0.62	0.71	0.80	0.75	1					
14	0.44	0.48	0.44	0.26	0.27	0.35	0.58	0.76	0.46	0.57	0.68	0.53	0.65	1				
15	0.43	0.40	0.49	0.42	0.25	0.53	0.62	0.62	0.50	0.61	0.62	0.58	0.67	0.74	1			
16	0.47	0.65	0.72	0.41	0.32	0.60	0.46	0.82	0.78	0.70	0.78	0.49	0.78	0.62	0.62	1		
17	0.42	0.63	0.71	0.48	0.39	0.57	0.52	0.77	0.68	0.54	0.73	0.56	0.68	0.65	0.70	0.70	1	
18	0.37	0.41	0.67	0.61	0.60	0.69	0.64	0.58	0.63	0.57	0.63	0.40	0.51	0.43	0.41	0.62	0.59	1

Meryemana dikenî bireylerinde, iPBS markörlerinden elde edilen sonuçlarda PC eksenleri kullanarak kümeleme analizine tabi tutulmuştur. Bu analizden elde edilen dendrograma bakıldığında 0.53 benzerliğinde popülasyonlar üç ana gruba ayrılmışlardır. Birinci ana grup iki alt gruba ayrılırken ikinci ana grupta sadece bir popülasyon yer almıştır. Üçüncü ana grup ise iki alt gruba ayrılmıştır.

Dendrograma göre, birinci ana grubun birinci alt grubunda Ahvaz, Ardabil, Damavand, Roodbar, Sari, Manisa, Menemen, Shayban, Zanzan ve Aydın popülasyonu yer alırken ikinci alt grubunda Bornova ve Cumaovası popülasyonları yer almıştır. Ayrıca popülasyonların ikinci ana grubunda sadece Ankara popülasyonu yer almıştır. Üçüncü ana grup incelendiğinde, bu grubun birinci alt grubunda sadece Darram a popülasyonu yer almışken ikinci alt grubunda Darram b, Firozabad, Budakalaszi (tescilli çeşit) ve Kermanshah popülasyonları birlikte kümelenmiştir (Şekil 4.2). Elde edilen dendrograma göre, Ahvaz ve Kermanshah popülasyonları bir birinden en uzak olan popülasyonlar olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 2 Meryemana dikenî popülasyonları arasındaki benzerliklere göre elde edilen dendrogram

Meryemana dikenî popülasyonları üzerine yapılmış olan önceki moleküler çalışmalara bakıldığında, Mohammadi et al., (2011), İran orijinli 32 meryemana dikenî popülasyonu üzerine yaptıkları araştırmada kullandıkları AFLP primeri

sonucunda PIC değerleri 0.24- 0.44 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu araştırmada AFLP markörlerinden elde edilen sonuçların dendrogramına bakıldığında popülasyonlar iki ana gruba ayrılmıştır. Elde edilen dendrogramda popülasyonlar orijine göre iki ayrı ana gruba ayrılmış; birinci ana grupta İranın kuzey ve kuzey batısına ait olan popülasyonlar yer almış, ikinci ana grupta ise İran'ın güneyine ait olan popülasyonlar kümelenmiştir. Bu araştırmada elde edilen dendrogram popülasyonların toplandığı orijinlerle büyük bir uyum sağlamıştır. Bu araştırmanın sonuçlarını bizim araştırmanın sonuçları ile karşılaştırdığımızda, popülasyonlar orijinlere göre gruplandırılmamıştır ve aynı grupta hem Türkiye ve hem de İran orijinli popülasyonların yer aldığı ve popülasyonların orijinlerine dayalı bir ayırım yapılmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Sharaf et al., (2011), 12 meryemana dikenini popülasyonunu üzerine kullandıkları RAPD ve ISSR primerlerinden elde edilen verilerin kümeleme analizi sonucunda popülasyonlar iki ana gruba ve her ana grup iki alt gruba ayrılmıştır. Ayrıca bu araştırmada yakın lokasyonlar bir alt grupta yer almıştır. Bu araştırmada, RAPD ve ISSR markörlerinden elde edilen dendrogramlar ile popülasyonların orijini arasında olan bağlantı, ayırım ve uyum bizim araştırmada kullanmış olan iPBS markörlerinden elde edilmemiştir ve dendrogramla popülasyon orijinleri arasında bir bağlantı kurulmadığı görülmüştür.

AbouZid, (2014), *S. marianum* var. album ve *S. marianum* var. purple arasında yapılmış olan ayırımın doğrultma amacı ile RAPD markörüne ait kullandığı dört primerin sonucunda bu iki varyetenin ayırımında kullandığı primerlerin yararlı olduğu ifadesinde bulunmuştur. Bizim araştırmada beyaz çiçeklere sahip olan Darram b popülasyonu mor çiçeklere sahip olan Firozabad ve Kermanshah popülasyonları ve Budakalaszi çeşidi ile aynı alt grupta yer almıştır.

Razna et al., (2015), meryemana dikeninin beş popülasyonunda genotipleme amacıyla yedi adet RAPD ve dört miRNA markörlerin primerlerini kullanma sonucunda, her iki markör tipinin de meryemana dikenini bitkisinin genotiplemesinde yararlı yöntem olduğunu ifade etmişlerdir.

Bizim araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, iPBS markörleri Razna et al., (2015), kullandıkları RAPD primerleri gibi meryemana dikenini popülasyonlarının arasında olan genetik farklılıkların belirlenmesinde yararlı bir markör olduğunu söyleyebiliriz.

Mahmood et al., (2010), meryemana dikenini bitkisinde, in vitro ve in vivo

koşullarında yetiştirilmiş olan somaklonal dokuların genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla kullandıkları RAPD primerleri sonuçlarına göre, RAPD makörlerin in vitro ve in vivo dokularda benzerlik ve benzersizliklerin teşhisinde yararlı bir teknik olduğu ifadesinde bulunmuşlardır.

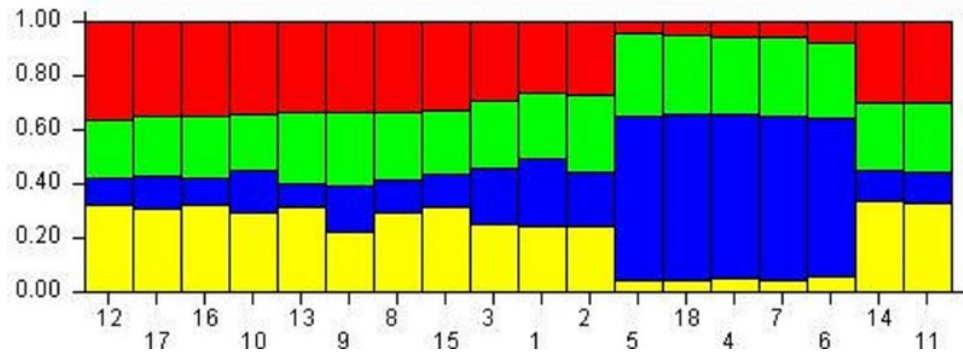
Yaptığımız araştırma sonuçlarına göre de, iPBS markörü RAPD markörleri gibi meryemana dikenli popülasyonlarının arasında olan genetik farklılıkları ortaya koymasında yararlı olduğunu ifade edebiliriz.

4.3.5 Popülasyon yapısı

Popülasyonun yapısının belirlenmesi için STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) programında kullanılan 18 meryemana dikenli popülasyonunda iPBS marköründen elde edilen toplam 93 bant sonucu ΔK değeri dört olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre; 18 meryemana dikenli popülasyonları kendi arasında dört ana gruba ayrılmıştır. Elde edilen gruplarda popülasyonların dağılımı Şekil 4.3'da gösterilmektedir. Birinci grupta Roodbar, Sari, Shayban, Ankara, Aydın, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları yer almıştır. İkinci grupta ise Ahvaz, Ardabil ve Damavand kökenli popülasyonlar yer almıştır. Bunların yanı sıra Darram a ve b, Firoozabad, Kermanshah ve tescilli çeşit Budakalaszi üçüncü grupta, Zanzan ve Bornava popülasyonları ise dördüncü grupta yer almıştır. Çizelge 4.34'de popülasyon yapısı şemasında (Şekil 4.3) verilen numaralara ait popülasyonlar ve kökenleri sunulmuştur.

Çizelge 4.34. Araştırma materyaline ilişkin Şekil 4.3'te verilen numaralara ait popülasyonlar ve kökenleri

Orijin	No.	Popülasyonlar
İran	1	Ahvaz
	2	Ardabil
	3	Damavand
	4	Darram <u>a</u>
	5	Darram <u>b</u>
	6	Firozabad
	7	Kermanshah
	8	Roodbar
	9	Sari
	10	Shayban
	11	Zanjan
Türkiye	12	Ankara
	13	Aydın
	14	Bornova
	15	Cumaovası
	16	Manisa
	17	Menemen
Tescilli Çeşit	18	Budakalaszi



Şekil 4.3. STRUCTURE programından elde edilen verilere göre Meryemana dikenli popülasyonları aralarındaki benzerliklere göre dağılımı

Guo et al., (2014), üzüm varyetesi arasındaki moleküler farklılıkları iPBS markör sistemini kullanarak inceleme sonucunda, kültüre alınmış olan ve yabani üzüm varyeteleri arasındaki farklılık hem UPGMA kümeleme analizi ve hem de PCoA analizi ile açıkça gösterilmiş ve aynı zamanda bu çalışma, iPBS markörünün, üzüm genetik farklılıklarının değerlendirmesi için basit,

bilgilendirici, tekrarlanabilir ve uygun bir yöntem olduğunu doğrulamıştır.

Üzüm varyetelerinde yapılmış olan araştırmada (Guo et al., 2014), iPBS primerleri % 86.3 oranında polimorfik bant üretimi ile aralarındaki genetik farklılıkları belirleyebildiği gibi *S. marianum*'da da genetik farklılıkları belirlemesi izlenmektedir. Ancak bu araştırmada bizim araştırmaya göre (%37.63) daha yüksek polimorfik oranı elde edildiği izlenmektedir. Bu yüksek polimorfik oranını Guo et al., (2014), daha çok sayıda popülasyonda ve daha çok primerler ile inceleme yaptıkları ile açıklamak mümkündür.

Meryemana dikenli bitkisi üzerine yaptığımız moleküler araştırmada, fasulye (Nemli et al., 2015), çeltik (Cömertpay et al., 2015), Çin koca yemişi (*Myrica rubra*), (Chen and Liu 2014), azgın teke otu (Chen et al. 2015), kayısı (Baranek et al. 2012), mercimek (Shehzad Baloch et al., 2015a), nohut (Solberg et al., 2015; Shehzad Baloch et al., 2015b), aslan otu (Borna et al., 2016) ve bamya (Yıldız et al., 2015) bitkileri üzerinde yapılmış olan araştırmalarının sonucunda ifade edildiği gibi iPBS markörleri meryemana dikenli bitkisinin de genetik farklılıklarını belirlemesinde yararlı bir yöntem olduğu görülmüştür. Ayrıca incelenen literatür taraması sonucunda, meryemana dikenli bitkisi üzerine yapılmış olan RAPD (Mahmood et al., 2010; Razna et al., 2015; AbouZid, 2014; Hammada et al., 2009) ve AFLP (Mohammadi et al., 2011) markörleri bireyler arasında olan genetik farklılıkları belirlenmesinde yararlı ve etkili yöntemler oldukları gibi iPBS markörleri de bu bitkinin popülasyonları arasında olan farklılıkları ortaya koymasında yararlı, etkili ve kullanılabilir bir yöntem olduğu izlenmektedir. Ancak Mohammadi et al., (2011), araştırmalarında kullandıkları çoğaltılmış AFLP markörlerinin sonucunda popülasyonlar orijinlerine göre gruplandırılmıştır. Bu araştırmanın sonucunu bizim araştırmanın sonucu ile karşılaştırdığımızda, yürüttüğümüz araştırmada iPBS primerlerinden elde edilen dendrogram ve popülasyon yapısında, popülasyonlar orijine göre gruplandırılmamıştır.

Ayrıca, AbouZid, (2014), *S. marianum* varyetelerini (mor ve beyaz çiçekli) RAPD yöntemi ile ayırlamış, ancak yaptığımız araştırma ve kullandığımız primerlerin sonucuna göre, AbouZid, (2014)'ün çalışmasında yapılmış olan varyeteler arasında ayırım, bizim araştırmanın sonucunda gerçekleşmemiş ve beyaz renkli çiçeklere sahip olan Darram b popülasyonu mor renkli çiçeklere sahip olan popülasyonlarla aynı grup içerisinde yer almıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye ve İran kökenli meryemana diken popülasyonları ile tescilli çeşit Budakalaszi'nin İzmir Bornova koşullarında agro-morfolojik, fitokimyasal ve moleküler farklılıkları belirlemek amacıyla iki yıl yürütülen bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar alınmıştır:

Denemede agro-morfolojik özelliklere bakıldığında, yıllar bakımından, bitki boyu ortalamaları değerlendirildiğinde, Roodbar, Aydın, Bornova, Cumaovası Manisa, Menemen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi denemenin birinci yılında ve Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Sari, Shayban, Zanjan ve Ankara popülasyonları denemenin ikinci yılında daha kısa boylu oldukları saptanmıştır. İleride bu bitkinin ıslahına yönelik yapılacak çalışmalarda bitki boyu özelliği bakımından kısa boylu bitkilerin yetiştirme, bitki yatmasının engellenmesi ve hasat kolaylığı gibi nedenlerle tercih edileceği düşünülmektedir. Bu açıdan Zanjan, Ardabil ve Damavand kısa boylu popülasyonlar olup ıslah çalışmalarında uygun ebeveynler olarak ön plana çıkmaktadır.

Yan dal boyu özelliğine ilişkin deneme yılları karşılaştırıldığında, Kermanshah, Roodbar, Zanjan, Ankara, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları dışında 2014 yılında diğer popülasyonlar daha yüksek yan dal boyuna ulaşmışlardır. Ayrıca deneme sonuçlarına göre verimin diğer komponentlerinin geliştirilmesi ile birlikte hasat kolaylığı nedeniyle daha yüksek yan dal boyuna sahip olan verimli tiplerin geliştirmesinde Shayban, Ardabil, Sari, Ahvaz, Menemen ve Budakalaszi çeşidi uygun ıslah materyali olarak kullanılabilir.

Ayrıca yan dal sayısı özelliği açısından deneme yılları karşılaştırıldığında, Cumaovası popülasyonu 2014 yılında, diğer popülasyonlar ise 2015 yılında daha az yan dal sayısına sahip olmuşlardır. Meryemana diken popülasyonlarında tohumların yetiştirme ve olgunlaşmasında bir bitkinin çiçekleri arasında büyük bir heterojenlik olduğundan dolayı bu bitkide yan dal sayısının azalması tohumların yetiştirme ve olgunlaşması açısından homojenitenin artmasında bir avantaja sahip olabileceği düşünülmektedir. Araştırma sonuçları incelendiğinde, düşük yan dal sayısına sahip olan sırayla Manisa, Kermanshah, Ankara ve Aydın popülasyonları

uygun ıslah materyali oluşturabileceği görülmektedir.

Bitki sıklığı artarken, yan dal açısının daralması ile birim alanda daha fazla bitki yetiştirilebilecektir. Yan dal açısı bakımından bitkiler incelediklerinde Firozabad ve Ankara popülasyonları denemenin birinci yılında Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram a, Darram b, Kermanshah, Roodbar, Sari, Shayban, Zanjan, Aydın, Bornova, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonlar ile Budakalaszi çeşidi ise denemenin ikinci yılında daha dar açiya sahip olmuşlardır. Birim alanda daha fazla bitkinin yetiştirilmesi verimi artıracığından deneme Ankara, Aydın, Zanjan ve Shayban popülasyonları yıllarında en dar açiya sahip olmuş ve Darram b, Darram a, Kermanshah ve Ahvaz popülasyonları ise en geniş açiya sahip olmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak bitki sıklığı ile ilgili olan ıslah programları için bu popülasyonlar ıslah kaynağı olarak programlarda yer alabilirler.

Ana sap çapı kalınlığının artması, bitkinin yatmasını engelleme potansiyeline sahip olması bakımında olumlu etkiye sahiptir. İzmir, Bornova ekolojik koşullarında yürüttüğümüz araştırmada, Ardabil, Roodbar, Sari, Ankara, Aydın ve Cumaovası popülasyonlarından denemenin ikinci yılında ve diğer popülasyonlardan denemenin birinci yılında daha yüksek ana sap kalınlığı değerleri elde edilmiştir. Denemede yıllar ortalamasında en yüksek ana sap kalınlığı değerine sahip olan popülasyonlar Türkiye kökenli Manisa, Cumaovası, Bornova ve tescilli Budakalaszi çeşidi olmuşlardır. Bu popülasyonlar bitki yatmasına karşı ıslah çalışmalarında uygun ıslah materyali olarak kullanılabilirler.

Denemenin birinci yılında popülasyonlar daha yüksek ana sap yaş ağırlığına ulaştıkları belirlenmiştir. Yıllar ortalaması incelendiğinde, en yüksek ana sap yaş ağırlığına Bornova, Darram a, Darram b, ve Menemen popülasyonları ulaşmıştır. Ancak denemede ikinci yılda popülasyonlar daha yüksek kuru ana sap ağırlığına ulaşmışlardır. Bunun sonucu olarak denemenin ikinci yılında popülasyonların daha yüksek kuru madde oranına sahip oldukları söylenebilir ve bu farklılık iklim koşullarından kaynaklanmış olabilir. En yüksek kuru ana sap ağırlığı yıllar ortalamasında Bornova, Menemen, Darram b ve Darram a popülasyonlarında saptanmıştır.

Denemenin birinci yılında popülasyonlar daha uzun yaprak boyuna sahip oldukları izlenmiştir. Ayrıca Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Roodbar, Zanjan, Manisa ve Menemen popülasyonlar ile

Budakalaszi çeşidi 2014 yılında ve Sari, Shayban, Ankara, Aydın, Bornova ve Cumaovası popülasyonları 2015 yılında daha geniş yaprak enine sahip oldukları saptanmıştır.

Yaprak boyu ve eni büyük olan bitkilerin fotosentez alanının genişleyeceği bilinen bir gerçektir. Araştırma sonucunda, bu parametreler incelendiğinde, yaprak boyu ve eni büyüklüğü bakımından Menemen, Manisa ve Bornova popülasyonları öne çıktığı görülmektedir. Ancak yaprak boyu uzunluğunun yüksek olması yaprak eninin de geniş olacağı anlamına gelmemektedir. Nitekim yaprak boyu değeri yüksek olan Aydın popülasyonu yaprak eni değeri en geniş olan popülasyonlar içerisinde yer almamıştır. Aynı şekilde Ahvaz popülasyonu en yüksek yaprak boyu değerine sahip olan popülasyonlar arasında bulunmamıştır.

Araştırmada yıllar karşılaştırmasında, yaprak sapı eni özelliği yönünden Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Shayban, Zanjan, Ankara ve Bornova popülasyonları denemenin birinci yılında, Roodbar, Sari, Aydın, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi ise denemenin ikinci yılında, daha yüksek değerlere ulaştıkları saptanmıştır. Yıllar ortalamasında Ahvaz ve Manisa popülasyonları daha geniş yaprak sapı enine sahip oldukları belirlenmiştir. Bu özellikle ilgili yaprak canlılık süresi ve verimle ilgili (fotosentez ürünlerinin taşınması) bağlantıları incelendikten sonra ıslah çalışmasında bu özellik dikkate alınarak daha verimli ve ekonomik çeşitlerin geliştirilmesi mümkündür.

İleride yürütülecek ıslah çalışmalarında verim komponentlerini etkileyen önemli parametrelerden biri olan yaprak sayısının fazlalığı net asimilasyon ürünlerini artıracığından önemli bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır.

Denemede Firozabad, Kermanshah, Sari, Zanjan, Aydın, Cumaovası ve Manisa popülasyonları 2015 yılında ve diğer popülasyonlar 2014 yılında daha yüksek yaprak sayısına ulaşmışlardır. Bu özellik açısından yıllar ortalamasından elde edilen sonuçlara göre, daha verimli tipler geliştirmesi amacıyla Menemen ve Bornova popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi uygun ıslah materyalini oluşturabilecekleri dikkati çekmektedir.

Meryemana dikenli popülasyonları üzerine yürütülmüş olan bu çalışmada, 2014 ve 2015 yıllarına ait yaş ve kuru yaprak ağırlığı değerleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda yaş yaprak ağırlığı yüksek olan popülasyonların aynı zamanda yaprak kuru ağırlıklarının da yüksek olması beklenirken, ürettikleri kuru

madde bakımından farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Denemenin birinci yılında en yüksek yaş yaprak değerlerine sahip olan Aydın, Manisa, Menemen ve Bornova popülasyonları iken en yüksek yaprak kuru ağırlığı Menemen, Aydın, Shayban ve Manisa popülasyonlarında belirlenmiştir. Ayrıca denemenin ikinci yılında, en yüksek yaş yaprak ağırlığına Cumaovası, Manisa, Menemen ve Ankara popülasyonları ulaşmış iken en yüksek yaprak kuru ağırlığı Cumaovası, Manisa, Bornova popülasyonları ve Budakalaszi çeşidinde belirlenmiştir. Araştırma yıllarına ait ortalamalar değerlendirildiğinde hem yaş ve hem de kuru yaprak ağırlığı yüksek olan Menemen, Manisa, Cumaovası ve Aydın popülasyonların olduğu ortaya çıkmaktadır. Söz konusu popülasyonlar ıslah materyali oluşturma potansiyeli açısından önemlidir.

Menemen popülasyonu 2015 yılında ve diğer popülasyonlar 2014 yılında daha geniş yaprak açısına sahip oldukları saptanmıştır. Bu özellik ekim sıklığına uygun çeşit geliştirme amaçlı ıslah programlarında önem taşımaktadır. Yıl birleştirmesinde Ankara popülasyonu en dar yaprak açısına sahip olmasıyla sık ekimlere uygun olan çeşit ıslahında önemli bir ıslah materyali olarak faydalı olabilmektedir. Ayrıca Budakalaszi çeşidi ile Bornova ve Kermanshah popülasyonları geniş yaprak açılarına sahip olmaları ile daha az sıklıkta ekimlere uygun olabilen çeşit geliştirmesinde uygun materyal olarak kullanılabilirler. Ancak yaprak açısı ile tohum verimi arasındaki ilişkinin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir.

Ahvaz, Damavand, Kermanshah, Bornova, Cumaovası ve Manisa popülasyonları 2014 yılında, diğer popülasyonlar ise 2015 yılında daha az çiçek sayısına ulaştıkları izlenmiştir. Yıllar ortalamasına bakıldığında, Zanjan, Sari, Aydın, Kermanshah ve Firozabad popülasyonları daha az çiçek sayısına sahip oldukları görülmektedir. Daha az çiçek sayısına sahip olan popülasyonlar homojen yetişen genotipler elde etme ıslahında faydalı ve değerli popülasyonlar olarak değerlendirilebilir.

Bu bitkide tohumların olgunlaşmasında heterojenlik olması nedeniyle ve ana tablelerde bulunan tohumlar en erken olgunlaşan tohumlar oldukları için erken hasat edilebilme özelliği açısından bu çiçeklerin büyük olması avantaj taşımaktadır. Bu yüzden tek çiçekli bitkiler ıslah programlarında daha verimli tek çiçekli bitkiler elde edilmesinde değerli ıslah materyalini oluşturabilirler. Denemenin birinci yılında popülasyonlar daha büyük çiçek çapına ulaşmışlardır.

Yıllar ortalamasında Bornova, Menemen, Ankara ve Manisa popülasyonlarında çiçeklerin daha büyük çapa sahip oldukları belirlenmiştir. Bu popülasyonlar yukarıda söylenen ıslah programlarında kullanılabilirler. Ancak bu özellikle diğer verim komponentleri arasında olan ilişkiler detaylı bir şekilde incelenmelidir.

Meryemana dikenli bitkisinde ana tabla ağırlığı, çiçek tabla ağırlığı ve içinde oluşan tohumlardan meydana gelmektedir. Yıllar karşılaştırmasında, Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram b, Sari, Shayban, Zanjan, Ankara, Aydın, Bornova, Cumaovası ve Manisa popülasyonlar ile Budakalaszi çeşidi denemenin birinci yılında ve Darram a, Firozabad, Kermanshah, Roodbar ve Menemen popülasyonları denemenin ikinci yılında, çiçekleri farklı zamanlarda olgunlaşan bitkiler arasından, daha büyük ana tabla ağırlığına ulaştıkları belirlenmiştir. Yıllar ortalamasında bakıldığında, en yüksek ana tabla ağırlığı Menemen, Ankara, Bornova ve Zanjan popülasyonlarında izlenmiştir. Ana tablaların tohum, silymarin ve sabit yağ içeriği verimine olan yüzde katkısını göz önünde bulundurarak bu popülasyonlar homojen yetişen bitkiler geliştirme amacıyla tek çiçekli veya az çiçek sayısına sahip olan bitkiler elde edebilmesi için değerli genetik kaynakları oluşturmaktadır.

Bitki başına çiçek ağırlığının denemenin birinci yılında Ahvaz, Damavand, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Shayban, Zanjan, Ankara, Aydın, Bornova, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidinde, denemenin ikinci yılında ise Ardabil, Roodbar ve Sari popülasyonlarında daha yüksek değerlere sahip oldukları belirlenmiştir. Yıllar ortalamasında, Menemen ve Bornova popülasyonları ile Budakalaszi çeşidinin en fazla çiçek sayısına sahip oldukları saptanmıştır. Ancak bu özellik ile elde edilen dane verim değeri arasında olan ilişkiler incelendikten sonra bu popülasyonların ıslah materyali olarak kullanılmasına karar verilebilir.

Verimi etkileyen en önemli faktörlerden biri olarak dane sayısı bilinmektedir. Deneme yıllarında popülasyonlarda yıllar arasında ana tabla tohum sayısı açısından farklılık olduğu saptanmıştır. Yıllar ortalamasında en yüksek ana tabla tohum sayısına Zanjan, Ankara, Manisa ve Menemen popülasyonları ulaşmıştır. Bu popülasyonlar homojen yetişen ve verimli tipler oluşturma ıslahı için uygun materyal olarak kullanılabilirler.

Bitki başına tohum sayısı özelliği bakımından, deneme yıllarında, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Sari, Sayban, Zanjan, Ankara, Aydın,

Bornova, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidi denemenin ilk yılında, Ahvaz, Ardabil, Damavand ve Roodbar popülasyonları ise denemenin ikinci yılında daha yüksek tohum sayısına sahip oldukları belirlenmiştir. Yıllar ortalamasında en yüksek tohum sayısı Menemen, Darram b, Darram a ve Bornova popülasyonlarında izlenmiştir. Bu popülasyonların verimli tip veya çeşit geliştirilmesinde ıslah materyali olarak kullanılmaları düşünülebilir.

Ana tabla tohum ağırlığı değerleri açısından, denemenin ilk yılında Darram a, Shayban, Zanjan ve Ankara popülasyonları ve tescilli Budakalaszi çeşidi denemenin ikinci yılına göre daha yüksek ana tabla tohum ağırlığına sahip oldukları bulunmuştur. Bu özellik daha verimli ve daha homojen yetişen tek çiçekli bitkiler elde edebilmek amacıyla ıslahda önem taşımaktadır.

Tek bitki başına tohum ağırlığı değerleri incelendiğinde, denemenin ilk yılında Ahvaz, Ardabil, Damavand, Kermanshah, Roodbar, Bornova ve Cumaovası popülasyonları hariç diğer popülasyonlar daha yüksek verime sahip oldukları belirlenmiştir. Yıllar ortalamasına bakıldığında Menemen, Darram b, Bornova ve Darram a popülasyonlarının daha yüksek tohum ağırlıklarına ulaştıkları saptanmıştır. Islah programlarında diğer üstün bitki özelliklerine sahip olan popülasyonların özelliklerini yüksek verim özelliği ile birleştirme amacıyla bu popülasyonlar ıslah materyali olarak kullanılabilirler.

İzmir ekolojik koşullarında yürütülen bu denemede popülasyonlar bin dane ağırlığı değerleri bakımından karşılaştırdığında, denemenin birinci yılında Ardabil, Roodbar ve Shayban popülasyonları ile tescilli Budakalaszi çeşidi, denemenin ikinci yılında ise diğer popülasyonların daha yüksek bin dane ağırlığına sahip oldukları belirlenmiştir. Yürütülmüş olan iki yıllık denemede bu özellik açısından ortalamalara bakıldığında, Roodbar, Ahvaz, Ankara ve Menemen popülasyonları en yüksek bin dane ağırlığına sahip oldukları hesaplanmıştır. Bin dane ağırlığı verimi etkileyen en önemli komponentlerden birisidir. Islah çalışmalarında daha yüksek bin dane ağırlığına sahip olan popülasyonlar kullanıldığında daha yüksek verimli bitkiler elde edilebilirliğinden dolayı bu popülasyonlar büyük önem taşımaktadırlar.

Denemenin birinci yılında tüm popülasyonların biyolojik verimi daha yüksek bulunmuştur. Denemenin yıllar ortalaması incelendiğinde, Ardabil, Menemen, Darram b ve Darram a popülasyonları en fazla biyolojik verime ulaşmışlardır. Bunun yanı sıra Aydın, Roodbar, Zanjan ve Kermanshah

popülasyonları daha düşük biyolojik verime sahip oldukları belirlenmiştir. Bu özellikle diğer verim komponentleri arasında olan korelasyon ve bağlantılar da gözden geçirilerek daha düşük veya daha yüksek biyolojik verim ve daha ekonomik bitkiler elde edilebilmesi bakımından ıslah programlarında bitki materyali olarak yer almalarında ve istenilen sonuca ulaşabilmek için önem taşımaktadırlar.

Meryemana dikenli bitkisinin yetiştiriciliğinde en büyük zorluklardan biri, bu bitkinin hem yaprak ve hem de çiçeklerinde bulunan odunsu dikenler olduğu söylenebilir.

Denemenin birinci yılında Ahvaz, Darram b, Roodbar, Sari ve Manisa popülasyonları, denemenin ikinci yılında ise diğer popülasyonların daha kısa diken uzunluğuna sahip oldukları bulunmuştur. Denemenin yıllar ortalaması incelendiğinde, çiçekte diken uzunluğu tescilli Budakalaszi çeşidi ve Shayban, Ardabil, Damavand ve Darram a popülasyonlarında daha kısa olarak belirlenmiştir. Bu özellik verim komponentlerini negatif etkileyen bir korelasyon bulunmazsa daha kısa dikenli ve hatta dikensiz bitkiler elde edilebilmesi açısından ıslah çalışmalarında önemli materyalleri oluşturabilmektedir.

Dane verimi özelliği bakımından yürütülmüş olan bu iki yıllık araştırmanın sonuçları karşılaştırıldığında, denemenin birinci yılında Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Sari, Shayban, Zanjan, Ankara, Aydın, Cumaovası, Manisa ve Menemen popülasyonları ile Budakalaszi çeşidinde dane verimi daha yüksek bulunmuştur. Denemenin yıllar ortalaması incelendiğinde, Menemen, Darram b, Bornova ve Darram a popülasyonları en fazla dane verime ulaşmışlardır. Bu bitkide dane verimi parametresi en önemli özellik olarak bilinen, daha ekonomik bitkilerin elde edilebilmesinde ıslah programlarında bitki materyali olarak yer almalarında ve istenilen sonuca ulaşabilmek için çok büyük önem taşımaktadırlar.

Araştırmanın sonuçlarına göre, hasat indeksi, denemenin ikinci yılında tüm populasyonlarda ilk yıla göre daha yüksek bulunmuştur. Denemenin yıllar ortalamasına bakıldığında, Aydın, Ankara, Firozabad ve Zanjan popülasyonları en yüksek hasat indeksine sahip oldukları saptanmıştır. Bitki ıslahına yönelik hasat indeksi yüksek olan popülasyonlar bitki ıslah çalışmalarında bir ebeveyn olarak kullanıldığında üstün ve verimli bitkiler elde edilebilmesinde fayda sağlayabilmektedir.

Tıbbi bitkileri diğer bitkilerden farklı yapan sekonder metabolitlerdir. Meryemana dikenli bitkisinde üretilen silymarin adlı sekonder metabolit başlıca karaciğer hastalıkları ve düzensizlikleri tedavisinde kullanıldığının yanı sıra çeşitli hastalıklar tedavisinde de kullanılmaktadır. Bu bitkinin yetiştiriciliğinde en önemli verim komponentlerinden biri silymarin verimidir. Silymarin verimini etkileyen en önemli faktörlerden biri ise silymarin oranıdır. Silymarin oranı açısından deneme yılları karşılaştırıldığında, denemenin ilk yılında Ahvaz, Ardabil, Damavand, Darram a, Darram b, Kermanshah, Roodbar, Shayban, Zanjan, Ankara, Bornova, Cumaovası ve Menemen popülasyonları denemenin ikinci yılına göre daha yüksek silymarin oranlarına ulaştıkları tespit edilmiştir. Denemenin ikinci yılında ise Firozabad, Sari, Aydın ve Manisa popülasyonları ile Budakalaszi çeşidinin daha yüksek oranlara sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, yıllar ortalamasında Darram a, Kermanshah ve Bornova popülasyonlarının diğer popülasyonlara göre daha yüksek silymarin oranlarına sahip oldukları tespit edilmiştir. Denemeye tabi tutulan tüm popülasyonlar arasından, silymarin oranı bakımından, öne çıkan bu değerli popülasyonlar daha verimli ve kaliteli tip ve çeşit geliştirmesinde çok önemli ve değerli ıslah materyali olarak kabul edilebilir ve kullanılabilirlik açısından yüksek potansiyele sahip oldukları söylenebilir.

Bu bitkinin yetiştirmesinin asıl amacı silymarin elde etmektir. Silymarin verimi değerinin verimin diğer komponentleri ile doğrudan bağlantılı olduğu söylenilebilir. Bu yüzden silymarin verimi meryemana dikenli bitkisinde verimin en önemli göstergesi olarak kabul edilebilir. Bornova koşullarında yürütülmüş olan bu iki yıllık araştırmada, deneme yılları karşılaştırıldığında, denemenin birinci yılında Damavand, Darram a, Darram b, Firozabad, Kermanshah, Sari, Shayban, Zanjan, Ankara, Aydın, Bornova, Cumaovası, Manisa, Menemen popülasyonları ve Budakalaszi çeşidi denemenin ikinci yılına göre daha yüksek bitki başına ve dekara silymarin verimine ulaşmışlar, Ahvaz, Ardabil ve Roodbar popülasyonlarının ise denemenin ikinci yılında daha yüksek verimlere ulaştıkları belirlenmiştir. Yıllar ortalamasında Menemen, Bornova, Darram b, Darram a ve Ankara popülasyonları en yüksek bitki başına ve dekara silymarin verimine ulaşmışlardır. Bu özellik meryemana dikenli bitkisi ıslahında en önemli özellik olarak kabul edilebilir. Ayrıca Menemen, Bornova, Darram b, Darram a ve Ankara popülasyonları bu bitkinin ıslahında çok önemli ve değerli materyali oluşturmaktadır.

Yürütülen bu çalışmanın moleküler başlığı altında elde edilen sonuçlara göre, meryemana dikenî popülasyonları üzerinde daha önce hiç incelenmemiş olan iPBS markörü, genetik farklılıkların belirlenmesinde başarılı ve yararlı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abebe, W.**, 2002, Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 27(6), 391–401p.
- Abenavoli, L., Spagnuolo, R., Luppino, I. and Luzzo F.**, 2010 a, Recent Progress in Medicinal Plants. Spllc Press., 387 – 409p.
- Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N. And Capasso, F.**, 2010 b, Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy Research*, 24(10), 1423–1432p.
- AbouZid, S. F., Chen, S. N. and Pauli, G. F.**, 2016, Silymarin content in *Silybum marianum* populations growing in Egypt. *Industrial Crops and Products*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015306002>
- Ahmed, E., Malik, A., Ferheen, S. and Afza, N.**, 2007, Structural determination of silymins A and B, new pentacyclic triterpenes from *Silybum marianum*, by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 45(1), 79–81p.
- Alemardan, A., Karkanis, A. And Salehi, R.**, 2013, Breeding Objectives and Selection Criteria for Milk Thistle. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(2), 340p.
- Alix, K., andHeslop-Harrison, J.**, 2004, The diversity of retroelements in diploid and allotetraploid Brassica species. *Plant Molecular Biology*, 54(6), 895–909.
- Anderson, J. A., Churchill, G. A., Autrique, J. E., Tanksley, S. D. and Sorrells, M. E.**, 1993, Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36(1), 181–186p.
- Andrzejewska, J. and Sadowska, K.**, 2008, Effect of cultivation conditions on the variability and interrelation of yield and raw material quality in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). *Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura*, 7(3), 3–11p.
- Andrzejewska, J. and Skinder, Z.**, 2006, Yield and quality of raw material of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] grown in monoculture and in crop rotation. Part I. Reaction of milk thistle to the sowing date. *Herba Pol*, 52(4), 11–17p.
- Andrzejewska, J., Lamparski, R. and Skinder, Z.**, 2006, Assessing the extent of damage caused by *Cleonus piger* Scop. and other entomofauna in the cultivation of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]. *Res. J. Plant Protect*, 46(1), 49–59p.
- Andrzejewska, J., Sadowska, K. and Mielcarek, S.**, 2011, Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) grown on light soil in a moderate climate. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 462–468p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Andrzejewska, J. and Skinder, Z.**, 2007, Yield and quality of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) raw material grown in monoculture and in crop rotation. Pt. 2. Milk thistle reaction to potassium fertilization. *Herba Polonica* (Poland). 6, 5-10p.
- Auld, B. A. and Medd, R. W.**, 1987, Weeds: an illustrated botanical guide to the weeds of Australia. Inkata Press, Melbourne, 255p.
- Austin, M. P., Fresco, L. F. M., Nicholls, A. O., Groves, R. H. and Kaye, P. E.**, 1988, Competition and relative yield: estimation and interpretation at different densities and under various nutrient concentrations using *Silybum marianum* and *Cirsium vulgare*. *The Journal of Ecology*, 157-171p.
- Bae, E.-A., Han, M. J., Choo, M. K., Park, S. Y. and Kim, D.-H.**, 2002, Metabolism of 20 (S)- and 20 (R)-ginsenoside Rg3 by human intestinal bacteria and its relation to in vitro biological activities. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(1), 58-63p.
- Ball, K. R., and Kowdley, K. V.**, 2005, A review of *Silybum marianum* (milk thistle) as a treatment for alcoholic liver disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 39(6), 520-528p.
- Baloch, F. S., Alsaleh, A., de Miera, L. E. S., Hatipoğlu, R., Çiftçi, V., Karaköy, T. and Özkan, H.**, 2015b, DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 244-252p.
- Baloch, F. S., Derya, M., Andeden, E. E., Alsaleh, A., Cömertpay, G., Kilian, B. and Özkan, H.**, 2015a, Inter-primer binding site retrotransposon and inter-simple sequence repeat diversity among wild *Lens* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 58, 162-168p.
- Baránek, M., Meszáros, M., Sochorová, J., Čechová, J. and Raddová, J.**, 2012, Utility of retrotransposon-derived marker systems for differentiation of presumed clones of the apricot cultivar Velkopavlovická. *Scientia Horticulturae*, 143, 1-6p.
- Barnes, J.**, 2003, Pharmacovigilance of herbal medicines. *Drug Safety*, 26(12), 829-851p.
- Barreto, J. F. A., Wallace, S. N., Carrier, D. J. and Clausen, E. C.**, 2003, Extraction of nutraceuticals from milk thistle. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 108(1), 881-889p.
- Bean, C.**, 1985, The Nature Conservancy element stewardship abstract for *Silybum marianum*. Arlington, VA.
- Belyayev, A., Kalendar, R., Brodsky, L., Nevo, E., Schulman, A. H. and Raskina, O.**, 2010, Transposable elements in a marginal plant population: temporal fluctuations provide new insights into genome evolution of wild diploid wheat. *Mobile DnA*, 1(1), 6p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Benthin, B., Danz, H. and Hamburger, M.,** 1999, Pressurized liquid extraction of medicinal plants. *Journal of Chromatography A*, 837(1), 211–219p.
- Bergeron, C., Marston, A., Gauthier, R. and Hostettmann, K.,** 1996, Screening of plants used by North American Indians for antifungal, bactericidal, larvicidal and molluscicidal activities. *International Journal of Pharmacognosy*, 34(4), 233–242p.
- Bilia, A. R., Bergonzi, M. C., Gallori, S., Mazzi, G. and Vincieri, F. F.,** 2002, Stability of the constituents of calendula, milk-thistle and passionflower tinctures by LC-DAD and LC-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30(3), 613–624p.
- Bilia, A. R., Salvini, D., Mazzi, G. and Vincieri, F. F.,** 2001, Characterization of calendula flower, milk-thistle fruit, and passion flower tinctures by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Chromatographia*, 53(3), 210–215p.
- Borchers, A. T., Keen, C. L., Stern, J. S. and Gershwin, M. E.,** 2000, Inflammation and Native American medicine: the role of botanicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 339–347p.
- Borna, F., Luo, S., Ahmad, N. M., Nazeri, V., Shokrpour, M. and Trethowan, R.,** 2016, Genetic diversity in populations of the medicinal plant *Leonurus cardiaca* L. revealed by inter-primer binding site (iPBS) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1–14p.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W.,** 1980, Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal of Human Genetic*, 32:314–331p.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. and Gontier, E.,** 2001, Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839–851p.
- Boyko, E., Kalendar, R., Korzun, V., Gill, B. and Schulman, A. H.,** 2002, Combined mapping of *Aegilops tauschii* by retrotransposon, microsatellite, and gene markers. *Plant Mol Biol*, 48, 767–790p.
- Brevoort, P.,** 1996, aAn Overview Herbalgram En Trade, Medicines, TCM, Imports, Market_trends, Trends, Regulation, Industry, Potential, Statistics, Demography, Medicinal_applications, Price, Exports, Economics, Market, Survey, Use. *The US botanical market* 36, 49–57p.
- Cai, X., Li, D., Qiao, J., Lian, H. and Wang, S.,** 2009, Determination of silymarin flavonoids by HPLC and LC-MS and investigation of extraction rate of silymarin in *Silybum marianum* fruits by boiling water. *Asian Journal of Chemistry*, 21(1), 63p.
- Camel, V.,** 2001, Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *Analyst*, 126(7), 1182–1193p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Carrier, D. J., Crowe, T., Sokhansanj, S., Wahab, J. and Barl, B.,** 2002, Milk thistle, *Silybum marianum* (L.) Gaertn., flower head development and associated marker compound profile. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 10(1), 65–74p.
- Carrubba, A. and La Torre, R.,** 2003, Cultivation trials of milk thistle (*Silybum marianum* Gaertn.) into the semiarid Mediterranean environment. *Agricoltura Mediterranea*, 133(1), 14–19p.
- Catchpole, O. J., Perry, N. B., Da Silva, B. M. T., Grey, J. B. and Smallfield, B. M.,** 2002, Supercritical extraction of herbs I: Saw Palmetto, St John's wort, Kava root, and Echinacea. *The Journal of Supercritical Fluids*, 22(2), 129–138p.
- Ceccarelli, S.,** 2009, Evolution, plant breeding and biodiversity. *Journal of Agriculture and Environment for International Development (JAEID)*, 103(1/2), 131–145p.
- Chariieu, J.-P., Laurent, A.-M., Carter, D. A., Bellis, M., and Roizeès, G.,** 1992, 3' Alu PCR: a simple and rapid method to isolate human polymorphic markers. *Nucleic Acids Research*, 20(6), 1333–1337p.
- Chaterji, R., Tractenberg, R. E., Amri, H., Lumpkin, M., Amorosi, S. B., and Haramati, A.,** 2007, A large-sample survey of first-and second-year medical student attitudes toward complementary and alternative medicine in the curriculum and in practice. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(1), 30p.
- Chen, F. and Liu J.,** 2014, Germplasm genetic diversity of *Myrica rubra* in Zhejiang Province studied using inter-primer binding site and start codon-targeted polymorphism markers. *Scientia Horticulturae* 170: 169–175p.
- Chen, J., Xu, Y., Wei, G., Liao, S., Zhang, Y., Huang, W. and Wang, Y.,** 2015, Chemotypic and genetic diversity in *Epimedium sagittatum* from different geographical regions of China. *Phytochemistry*, 116, 180–187p.
- Cömertpay, G., Baloch, F. S., Derya, M., Andeden, E. E., Alsaleh, A., Sürek, H. and Özkan, H.,** 2015, Population structure of rice varieties used in Turkish rice breeding programs determined using simple-sequence repeat and inter-primer binding site-retrotransposon data. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 15, 1-14p.
- Cwalina-Ambroziak, B., Wierzbowska, J., Damszel, M. and Bowszys, T.,** 2012, The effect of mineral fertilization on achenes yield and fungal communities isolated from the stems of milk thistle *Silybum marianum* (L.) Gaertner. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 11(4), 157–168p.
- Danin, A. and Yom-Tov, Y.,** 1990, Ant nests as primary habitats of *Silybum marianum* (Compositae). *Plant Systematics and Evolution*, 169:3–4p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Das, S. K., Mukherjee, S. and Vasudevan, D. M.,** 2008, Medicinal properties of milk thistle with special reference to silymarin: An overview. *Nat Prod Rad*, 7, 182–192p.
- Davis-Searles, P. R., Nakanishi, Y., Kim, N.C., Graf, T. N., Oberlies, N. H., Wani, M. C. and Kroll, D. J.,** 2005, Milk thistle and prostate cancer: differential effects of pure flavonolignans from *Silybum marianum* on antiproliferative end points in human prostate carcinoma cells. *Cancer Research*, 65(10), 4448–4457p.
- Deep, G., Singh, R. P., Agarwal, C., Kroll, D. J. and Agarwal, R.,** 2006, Silymarin and silibinin cause G1 and G2–M cell cycle arrest via distinct circuitries in human prostate cancer PC3 cells: a comparison of flavanone silibinin with flavanolignan mixture silymarin. *Oncogene*, 25(7), 1053–1069p.
- Dillard, C. J. and German, J. B.,** 2000, Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(12), 1744–1756p.
- Ding, T., Tian, S., Zhang, Z., Gu, D., Chen, Y., Shi, Y. and Sun, Z.,** 2001, Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26(1), 155–161p.
- Dingwall, A. R.,** 1950, Variegated thistle and its control. *New Zealand Journal of Agriculture*, 81, 141–1422p.
- Dini, M., Navaei, N. P., Dokht, M., Faker Baher, Z., Qasemi, M. H. and Tavakkoli, H. O. L.,** 2002, Investigation of Various common names of plants Used in traditional Medicine. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IR2011000003>
- Dodd, J.,** 1989, Phenology and seed production of variegated thistle, *Silybum marianum* (L.) Gaertn., in Australia in relation to mechanical and biological control. *Weed Research*, 29(4), 255–263p.
- Dudai, N.,** 2012, Domestication and breeding of wild medicinal and aromatic plants-Thirty years of experience in Israel. *Acta Hort* 955:175-183p.
- Earnest, C.** 2005. Natural compounds to protect the liver. *Funct. Foods Nutraceut.*
- Ellis, T. H. N., Poyser, S. J., Knox, M. R., Vershinin, A. V., and Ambrose, M. J.,** 1998, Polymorphism of insertion sites of Ty1-copia class retrotransposons and its use for linkage and diversity analysis in pea. *Molecular and General Genetics MGG*, 260(1), 9–19p.
- Elvin-Lewis, M.,** 2001, Should we be concerned about herbal remedies. *J. Ethnopharmacol.* 75: 141-164p.
- Ernst, E.,** 2002, The Risk–Benefit Profile of Commonly Used Herbal Therapies: Ginkgo, St. John’s Wort, Ginseng, Echinacea, Saw Palmetto, and Kava. *Annals of Internal Medicine*, 136(1), 42-53p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fang-Yong, C., and Ji-Hong, L.,** 2014, Germplasm genetic diversity of *Myrica rubra* in Zhejiang Province studied using inter-primer binding site and start codon-targeted polymorphism markers. *Scientia Horticulturae*, 170, 169–175p.
- Fathi-Achachlouei, B., and Azadmard-Damirchi, S.,** 2009, Milk thistle seed oil constituents from different varieties grown in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(7), 643–649p.
- Fehér, J., Deák, G., Müzes, G., Lang, I., Niederland, V., Nekam, K., and Karteszi, M.,** 1989, Liver-protective action of silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases. *Orvosi Hetilap*, 130(51), 2723–2727p.
- Ferenci, P., Dragosics, B., Dittrich, H., Frank, H., Benda, L., Lochs, H. and Schneider, B.,** 1989, Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *Journal of Hepatology*, 9(1), 105–113p.
- Feschotte, C., Jiang, N., and Wessler, S. R.,** 2002, Plant transposable elements: where genetics meets genomics, *Nature Reviews. Genetics*, 3(5), 329p.
- Flavell, A. J., Bolshakov, V. N., Booth, A., Jing, R., Russell, J., Ellis, T. N., and Isaac, P.,** 2003, A microarray-based high throughput molecular marker genotyping method: the tagged microarray marker (TAM) approach. *Nucleic Acids Research*, 31(19), e115–e115p.
- Flavell, A. J., Dunbar, E., Anderson, R., Pearce, S. R., Hartley, R., and Kumar, A.,** 1992, Ty1–copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. *Nucleic Acids Research*, 20(14), 3639–3644p.
- Flavell, A. J., Knox, M. R., Pearce, S. R., and Ellis, T. H.,** 1998, Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. *The Plant Journal*, 16(5), 643–650p.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H. and Benner, K.,** 1998, Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease, *The American Journal of Gastroenterology*, 93(2), 139–143p.
- Fraschini, F., Demartini, G. and Esposti, D.,** 2002, Pharmacology of silymarin. *Clinical Drug Investigation*, 22(1), 51–65p.
- Gabay, R., Plitmann, U., and Danin, A.,** 1994, Factors affecting the dominance of *Silybum marianum* L.(Asteraceae) in its specific habitats, *Flora*, 189(3), 201–206p.
- Gabucci, L., Curioni, A., García, M., and Urrutia, M. E.,** 2002, Producción de semillas en el cultivo de cardo mariano. *Acta Horticulturae*, (569), 121–128p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Geneva, M., Stancheva¹, I., Sichanova, M., Boychinova, M., Georgiev, G. and Dolezal, M.,** 2008, Improvement of Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) Seed Yield and Quality with Foliar Fertilization and Growth Effector MD 148/II. Gen. Appl. Plant Physiology, special Issue, 34 (3-4), 309-318p.
- Ghahraman, A.,** 1999, Flora of IRAN. Research Institute of Forests Rangelands, Iran, , 3,pp: 587
- Ghavami, N., and Ramin, A. A.,** 2007, Salinity and temperature effects on seed germination of milk thistle. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38(19-20), 2681-2691p.
- Gold, L. S., Slone, T. H., Backman, G. M., Magaw, R., D., Costa, M., Lopipero, P. and Ames, B. N.,** 1987, Second chronological supplement to the Carcinogenic Potency Database: standardized results of animal bioassays published through December 1984 and by the National Toxicology Program through May 1986. Environmental Health Perspectives, 74, 237p.
- Gonceariuc, M.,** 2007, Some breeding results of *Silybum marianum* Gartn, Rom Biol Sci 5(1/2):52-53p.
- Grabowicz, M., Dorszewski, P. Szterk, P., Mikolajczak, J. and Pilat, J.,** 2004, Influence of whole crop milk thistle silage on cows' metabolism in a transition period, Medycyna Weterynaryjna. 60: 759-762p.
- Graf, T. N., Cech, N. B., Polyak, S. J. and Oberlies, N. H.,** 2016, A validated UHPLC-tandem mass spectrometry method for quantitative analysis of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum*) extracts, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 126, 26-33p.
- Gresta, F., Avola, G., and Guarnaccia, P.,** 2007, Agronomic characterization of some spontaneous genotypes of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) in Mediterranean environment. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 12(4), 51-60p.
- Guo, D. L., Guo, M. X., Hou, X.G., and Zhang, G. H.,** 2014, Molecular diversity analysis of grape varieties based on iPBS markers. Biochemical Systematics and Ecology, 52, 27-32p.
- Hadacek, F.,** 2002, Secondary Metabolites as Plant Traits: Current Assessment and Future Perspectives, Critical Reviews in Plant Sciences, 21(4), 273-322p.
- Hadolin, M., Škerget, M., Knez, Z., and Bauman, D.,** 2001, High pressure extraction of vitamin E-rich oil from *Silybum marianum*, Food Chemistry, 74(3), 355-364p.
- Hamburger, M., and Hostettmann, K.,** 1991, 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. Phytochemistry, 30(12), 3864-3874p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hammoda, F. M., Aboutabl, E. H., Imbaby, S. I., Nazief, N. H., Abdallah, W. A., Matter, M. A., Ghareeb, H. A., Saker, M. M. and Rady, M.,** 2009, Molecular and Phytochemical Characterization of Some *Silybum Landraces* Grown in Egypt, *The Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 7(2), 5-9p.
- Hammouda F.M., Ismail S.I., Hassan N.M. and Zaki A.K.,** 1994, Comparative studies of the oil from *Silybum marianum* cultivated in Egypt using GLC. Retrieved from <http://qspace.qu.edu.qa/handle/10576/10003>
- Hammouda S.I., Ismail S.I., Abdel-Azim N.S. and Shams K.A.,** 2017, *Silybum marianum* (L.) Gaertn. A Guide to Medicinal Plants in North Africa <http://www.uicnmed.org/nabp/database/HTM/PDF/p61.pdf>.
- Hasanloo, T., Khavari-Negad, R., Majidi, E., Ziai, S. and Shams- Ardekani, M.,** 2005, Determination of flavonolignans of dried fruits of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. collected from different areas of Iran by spectrophotometry, TLC and HPLC. *Journal of Medicinal Plant*, 1 (S1) :25-32p.
- Hassan M.A., Hammouda E.M., Mohamed S.M. and Embaby S. E.,** 1988, The effect of water regime and nitrogen fertilization on *Silybum marianum* L. *Egyptian Journal Application Science*, 3, 158–169p.
- Healey, A., Furtado, A., Cooper, T., and Henry, R. J.,** 2014, Protocol: a simple method for extracting next-generation sequencing quality genomic DNA from recalcitrant plant species, *Plant Methods*, 10(1), 1p.
- Hedges, D. J. and Batzer, M. A.,** 2005, From the margins of the genome: mobile elements shape primate evolution, *Bioessays*, 27(8), 785–794p.
- Hetz, E., Liersch, R., and Schieder, O.,** 1995, Genetic investigations on *Silybum marianum* and *S. eburneum* with respect to leaf colour, outcrossing ratio, and flavonolignan composition. *Planta Medica*, 61(01), 54–57p.
- Hevia, F., Wilckens, R. L., Berti, M. T. and Fischer, S. U.,** 2007, Quality of Milk Thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) Harvested in Different Phenological Stages. *Technological Information-Vol. 18 No. 4*, page: 69-74p.
- Hizi, A.,** 2008, The reverse transcriptase of the Tf1 retrotransposon has a specific novel activity for generating the RNA self-primer that is functional in cDNA synthesis. *Journal of Virology*, 82(21), 10906–10910p.
- Hoh, C., Boocock, D., Marczylo, T., Singh, R., Berry, D. P., Dennison, A. R. And Gescher, A.,** 2006, Pilot Study of Oral Silibinin, a Putative Chemopreventive Agent, in Colorectal Cancer Patients: Silibinin Levels in Plasma, Colorectum, and Liver and Their Pharmacodynamic Consequences | *Clinical Cancer Research*. Retrieved from <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/12/9/2944.short>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hostettmann, K. and Marston, A.**, 2002, Twenty years of research into medicinal plants: results and perspectives. *Phytochemistry Reviews*, 1(3), 275–285p.
- Huang, W., Sun, W., Lv, H., Luo, M., Zeng, S., Pattanaik, S. and Wang, Y.**, 2013a, A R2R3-MYB transcription factor from *Epimedium sagittatum* regulates the flavonoid biosynthetic pathway. *PloS One*, 8(8), e70778p.
- Huang, W., Sun, W., Lv, H., Xiao, G., Zeng, S., and Wang, Y.**, 2013b, Isolation and molecular characterization of thirteen R2R3-MYB transcription factors from *Epimedium sagittatum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(1), 594–610p.
- Huie, C. W.** (2002). A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373(1), 23–30p.
- Huseini, H. F., Larijani, B., Heshmat, R. al, Fakhrzadeh, H., Radjabipour, B., Toliat, T., and Raza, M.**, 2006, The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn.(silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytotherapy Research*, 20(12), 1036–1039p.
- Izzo, A.A. and Ernst, E.**, 2001, Interactions between herbal medicines and prescribed drugs - a systematic review. *Drugs*. 61: 2163-2175p.
- Jaccard, P.** (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaud Sci Nat*, 44, 223–270p.
- Jacobs, B. P., Dennehy, C., Ramirez, G., Sapp, J., and Lawrence, V. A.**, 2002, Milk thistle for the treatment of liver disease: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Medicine*, 113(6), 506–515p.
- Jing, R., Knox, M. R., Lee, J. M., Vershinin, A. V., Ambrose, M., Ellis, T. N., and Flavell, A. J.**, 2005, Insertional polymorphism and antiquity of PDR1 retrotransposon insertions in *Pisum* species. *Genetics*, 171(2), 741–752p.
- Jurka, J.**, 2004, Evolutionary impact of human Alu repetitive elements. *Current Opinion in Genetics and Development*, 14(6), 603–608p.
- Kalendar, R. and Schulman, A. H.**, 2006, IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*, 1(5), 2478p.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. and Schulman, A. H.**, 2010, iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419–1430p.
- Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A. and Schulman, A.**, 1999, IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(5), 704–711p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kalendar, R., Tanskanen, J., Chang, W., Antonius, K., Sela, H., Peleg, O. and Schulman, A. H.,** 2008, Cassandra retrotransposons carry independently transcribed 5S RNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(15), 5833–5838p.
- Kalendar, R., Tanskanen, J., Immonen, S., Nevo, E. And 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*, 97(12), 6603–6607p.
- Karkanis, A., Bilalis, D. and Efthimiadou, A.,** 2011, Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 825–830p.
- Katar, D., Arslan, Y. and Subasi, İ.,** 2013, Effect of different plant densities on growth and yield of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] grown under ecological conditions of Ankara, Turkey. *Res. on Crops* 14 (1), 304-310p.
- Kazmierczak K, Seidler-Łoz, K.,** 1997, Silma the Polish variety of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.). *Herba Polonica.*; 3, 195–7p.
- Kelly, N. J., Palmer, M. T. and Morrow, C. D.,** 2003, Selection of retroviral reverse transcription primer is coordinated with tRNA biogenesis. *Journal of Virology*, 77(16), 8695–8701p.
- Kemper, K. J., Amata-Kynvi, A., Dvorkin, L. and Whelan, J. S.,** 2003, Herbs and other dietary supplements: Healthcare professionals' knowledge, attitudes, and practices. *Alternative Therapies in Health and Medicine; Aliso Viejo*, 9(3), 42–9p.
- Khan, M. A., Blackshaw, R. E. and Marwat, K. B.,** 2009, Biology of milk thistle (*Silybum marianum*) and the management options for growers in north-western Pakistan. *Weed Biology and Management*, 9(2), 99–105p.
- Kidd, P., and Head, K.,** 2005, A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin-phosphatidylcholine complex (Siliphos). *Alternative Medicine Review*, 10(3), 193p.
- Kim, N. C., Graf, T. N., Sparacino, M. C., Wani, M., and Wall, M. E.,** 2003, Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Organic and Biomolecular Chemistry*, 1(10), 1684–1689p.
- Kiruthiga, P. V., Shafreen, R. B., Pandian, S. K., and Devi, K. P.,** 2007, Silymarin protection against major reactive oxygen species released by environmental toxins: exogenous H₂O₂ exposure in erythrocytes. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 100(6), 414–419p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kittur, S., Wilasrusmee, S., Pedersen, W. A., Mattson, M. P., Straube-West, K., Wilasrusmee, C. and Kittur, D. S., 2002, Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) on neurons in culture. *Journal of Molecular Neuroscience*, 18(3), 265–269p.
- Kolářková, P., and Růžicková, G., 2013, Genetic resources of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]. *Mendelnet*, 644–648p.
- Kolářková, P., Růžicková, G., Šafránková, I., Hron, K. and Hřůzová, K., 2015, Evaluation of the growth dynamics and morphological characteristics of genetic sources of *Silybum Marianum* (L.) Gaertn. *Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 63, 125p.
- Kozera, W. and Nowak, K., 2004, The effect of fertilization on milk thistle (*Silybum marianum*) yield and its chosen features. *Ann. UMCS, Sect. E*, 59(1): 369–374p.
- Kurkin, V. A., 2003, Saint-Mary Thistle: a Source of Medicinals (A Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37(4), 189–202p.
- Kurkin, V. A., Zapesochaya, G. G., Volotsueva, A. V., Avdeeva, E. V., and Pimenov, K. S., 2001, Flavolignans of *Silybum marianum* fruit. *Chemistry of Natural Compounds*, 37(4), 315–317p.
- Kvasnička, F., Biba, B., Ševčík, R., Voldřich, M., and Kratka, J., 2003, Analysis of the active components of silymarin. *Journal of Chromatography A*, 990(1), 239–245p.
- Ladas, E. J., Kroll, D. J., Oberlies, N. H., Cheng, B., Ndao, D. H., Rheingold, S. R., and Kelly, K. M., 2010, A randomized, controlled, double-blind, pilot study of milk thistle for the treatment of hepatotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer*, 116(2), 506–513p.
- Lang, Q., and Wai, C. M., 2001, Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review. *Talanta*, 53(4), 771–782p.
- Le Grice, S. F., 2003, “In the beginning”: initiation of minus strand DNA synthesis in retroviruses and LTR-containing retrotransposons. *Biochemistry*, 42(49), 14349–14355p.
- Lee, D. Y. W., and Liu, Y., 2003, Molecular Structure and Stereochemistry of Silybin A, Silybin B, Isosilybin A, and Isosilybin B, Isolated from *Silybum marianum* (Milk Thistle). *Journal of Natural Products*, 66(9), 1171–1174p.
- Lee, J. I., Narayan, M., and Barrett, J. S., 2007, Analysis and comparison of active constituents in commercial standardized silymarin extracts by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 845(1), 95–103p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Leung, A. Y., and Foster, S.**, 1996, Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. Journal of the American Chemical Society, 118(37), 8988p.
- Li, G. and Quiros, C. F.** (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. Theoretical and Applied Genetics. 103:455–461p.
- Li, L. H., Wu, L. J., Zhou, B., Wu, Z., Tashiro, S., Onodera, S. and Ikejima, T.**, 2004, Silymarin prevents UV irradiation-induced A375-S2 cell apoptosis. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27(7), 1031–1036p.
- Libster, M.**, 2002, Delmar's integrative herb guide for nurses. Delmar/Thomson Learning, 669 -677p.
- Libster, M.**, 2002, Delmar's integrative herb guide for nurses. Delmar/Thomson Learning. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300084103>
- Luper, S.**, 1998, A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic, 3(6), 410–421p.
- M. Hammada, F., Aboutabl, E. H., I. Imbaby, S., H. Nazief, N., Wael, A. A., Matter, M. A. and Rady, M. R.**, 2009, Molecular and Phytochemical Characterization of Some *Silybum* Landraces Grown in Egypt. Retrieved May 8, 2016, from http://www.academia.edu/21399902/Molecular_and_Phytochemical_Characterization_of_Some_Silybum_Landraces_Grown_in_Egypt
- Madsen, H., Andersen, S., Nielsen, R. G., Dolmer, B. S., Høst, A., and Damkier, A.**, 2003, Use of complementary/alternative medicine among paediatric patients. European Journal of Pediatrics, 162(5), 334–341p.
- Mahmood, T., Nazar, N., Abbasi, B. H., Khan, M. A., Ahmad, M., and Zafar, M.**, 2010, Detection of somaclonal variations using RAPD fingerprinting in *Silybum marianum* (L.). Journal of Medicinal Plants Research, 4(17), 1822–1824p.
- Mak, J., and Kleiman, L.**, 1997, Primer tRNAs for reverse transcription. Journal of Virology, 71(11), 8087p.
- Mann, R. and Andrews, E.**, 2002, Pharmacovigilance. Wiley, Chicester.
- Mann, R. D. and Andrews, E. B.**, 2007, Pharmacovigilance. John Wiley and Sons.
- Marquet, R., Isel, C., Ehresmann, C. and Ehresmann, B.**, 1995, tRNAs as primer of reverse transcriptases. Biochimie, 77(1), 113–124p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martin, R. J., Lauren, D. R., Smith, W. A., Jensen, D. J., Deo, B., and Douglas, J. A.,** 2006, Factors influencing silymarin content and composition in variegated thistle (*Silybum marianum*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 34(3), 239–245p.
- Martin, R. J., Lauren, D. R., Smith, W. A., Jensen, D. J., Deo, B., and Douglas, J. A.,** 2006, Factors influencing silymarin content and composition in variegated thistle (*Silybum marianum*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 34(3), 239–245p.
- McKenna, D. J., Jones, K. and Hughes, K.,** 2002, Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements. Psychology Press.
- Mckenna, D. J., Jones, K. and Hughes, K.,** 2003, Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements, 2nd Edition. Nutrition in Clinical Practice, 18(4)p.
- Mel'nikov, T. M.,** 1983, Morphological-biological characteristics of *Silybum marianum* seeds as sowing material. Khimiko – Farmatsevticheskii Zhurnal.; 17 (8): 958 – 63p.
- Minakhmetov, R. A., Onuchak, L. A., Kurkin, V. A., Avdeeva, E. V., and Volotsueva, A. V.,** 2001, Analysis of flavonoids in *Silybum marianum* fruit by HPLC. Chemistry of Natural Compounds, 37(4), 318–321p.
- Mohammadi, S. A., Shokrpour, M., Moghaddam, M., and Javanshir, A.,** 2011, AFLP-based molecular characterization and population structure analysis of *Silybum marianum* L. Plant Genetic Resources, 9(03), 445–453p.
- Mohammadi, S. A., Shokrpour, M., Moghaddam, M. and Javanshir, A.,** 2011, AFLP-based molecular characterization and population structure analysis of *Silybum marianum* L. Plant Genetic Resources, 9(03), 445–453p.
- Montemurro, P., Fracchiolla, M., and Lonigro, A.,** 2007, Effects of Some Environmental Factors on Seed Germination and Spreading Potentials of *Silybum marianum* Gaertner. Italian Journal of Agronomy, 2(3), 315–320p.
- Morazzoni, P. and Bombardelli, E.,** 1995, *Silybum marianum* (*Carduus marianus*). Fitoterapia, 66(1), 3–42p.
- Mozaffarian, V.,** 2003, A Dictionary of Iranian Plants Names. (Farhang-e-Moaser, Tehran, Iran. Farsi).
- Murphy, JM., Caban, M. and Kemper, KJ.,** 2017. Longwood Herbal Task Force: <http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nemli, S., Kianoosh, T. and Tanyolaç M. B.,** 2015, Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). accessions through retrotransposon-based interprimer binding sites (iPBSs) markers. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39: 940-948p.
- Omer, E. A., Ibrahim, M. E., Razin, A. M., and Ahmed, S. S.,** 1995, Effect of spacing, nitrogen and potassium fertilization of *Silybum marianum* L. cultivated in newly reclaimed lands. Egyptian Journal of Horticulture (Egypt). Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=EG1998000375>
- Omer, E. A., Refaat, A. M., Ahmed, S. S., Kamel, A. and Hammouda, F. M.,** 1993, Effect of spacing and fertilization on the yield and active constituents of milk thistle, *Silybum marianum*. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 1(4), 17–23p.
- Omidbaigi R.,** 1997, Approaches to production and processing of medicinal plants. Tarrahan Nashr. Iran. Vol. 2, p: 319.
- Omidbaigi, R. and Nobakht, A.,** 2001, Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of milk thistle (*Silybum marianum*). Retrieved from <http://en.journals.sid.ir/ViewPaper.aspx?ID=380979>
- Osuchowski, M., Johnson, V., He, Q., and Sharma, R.,** 2004, Alterations in regional brain neurotransmitters by silymarin, a natural antioxidant flavonoid mixture, in BALB/c mice. Pharmaceutical Biology, 42(4–5), 384–389p.
- Parés, A., Planas, R., Torres, M., Caballería, J., Viver, J. M., Acero, D. and Rodés, J.,** 1998, Effects of silymarin in alcoholic patients with cirrhosis of the liver: results of a controlled, double-blind, randomized and multicenter trial. Journal of Hepatology, 28(4), 615–621p.
- Pawliszyn, J.,** 1993, Kinetic model of supercritical fluid extraction. Journal of Chromatographic Science, 31(1), 31–37p.
- Pearce, S. R., Stuart-Rogers, C., Knox, M. R., Kumar, A., Ellis, T. H., and Flavell, A. J.,** 1999, Rapid isolation of plant Ty1-copia group retrotransposon LTR sequences for molecular marker studies. The Plant Journal, 19(6), 711–717p.
- Phillipson, J. D.,** 2003, 50 Years of Medicinal Plant Research-Every Progress in Methodology is a Progress in Science. Planta Medica, 69(06), 491–495p.
- Polyak, S. J., Morishima, C., Shuhart, M. C., Wang, C. C., Liu, Y., and Lee, D. Y. W.,** 2007, Inhibition of T-cell inflammatory cytokines, hepatocyte NF- κ B signaling, and HCV infection by standardized silymarin. Gastroenterology, 132(5), 1925–1936.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pook, E. W.**, 1983, The effect of shade on the growth of variegated thistle (*Silybum marianum* L.) and cotton thistle (*Onopordum* sp.)*. Weed Research, 23(1), 11–17p.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P.**, 2000, Inference of population STRUCTURE using multilocus genotype data, Genetics, 155:945–959p.
- Purohit, S. M., Iqbal, M., and Srivastava, P. S.**, 1997, Seed germination studies on an important medicinal plant, *Silybum marianum* (Linn.). Hamdard Medicus (Pakistan). Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK1998000361>
- Qavami, N., Naghdi Badi, H., Labbafi, M. R., and Mehrafarin, A.**, 2013, A Review on Pharmacological, Cultivation and Biotechnology Aspects of Milk Thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). Journal of Medicinal Plants, 3(47), 19–37p.
- Qavami, N., Naghdi Badi, H., Labbafi, M. R., and Mehrafarin, A.** (2013). A Review on Pharmacological, Cultivation and Biotechnology Aspects of Milk Thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). Journal of Medicinal Plants, 3(47), 19–37p.
- Quaglia, M. G., Bossu, E., Donati, E., Mazzanti, G., and Brandt, A.**, 1999, Determination of silymarine in the extract from the dried *silybum marianum* fruits by high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 19(3), 435–442p.
- Radjabian, T., Rezazadeh, Sh. and Huseini, H.F.**, 2008, Analysis of silymarin components in the seed extracts of some milk thistle ecotypes from Iran by HPLC. Iranian Journal of Science and Technology (Sciences), 32(2), 141–146p.
- Rainone, F.**, 2005, Milk thistle. American Family Physician, 72(7). Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=0002838X&AN=18676999&h=U5JB8b6K7Wtnwx4qUbcIDiw%2F5y2S6DB%2Bx%2B7RXP8WQfV VzBoGwhoqTehpT%2Ft7xdv1eQg0f8wzwNEuXm5Z1l7gw%3D%3D&crl=c>
- Ram, G., Bhan, M. K., Gupta, K. K., Thaker, B., Jamwal, U., and Pal, S.**, 2005, Variability pattern and correlation studies in *Silybum marianum* Gaertn. Fitoterapia, 76(2), 143–147p.
- Ramasamy, K., and Agarwal, R.**, 2008, Multitargeted therapy of cancer by silymarin. Cancer Letters, 269(2), 352–362p.
- Ražná, K., Hlavačková, L., Bežo, M., Žiarovská, J., Habán, M., Sluková, Z. and Pernišová, M.**, 2015, Application of the RAPD and miRNA markers in the genotyping of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Acta Fytotechnica et Zootechnica, 18(4), 83–89p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Robinson, H.**, 2002, Three New Species of *Piptocarpha* (Asteraceae: Vernonieae) from Ecuador and Peru. Missouri Botanical Garden Press is collaborating with JSTOR to digitize, preserve and extend access to Novon. 12, 393-398p.
- Rohlf, F.J.**, 2000, NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. Exeter Publishing Setauket, New York.
- Ryant, P.**, 2003, Nutrition and Fertilisation of Alternative Oil Plants for Non-Food Purposes. In Proceedings of Ph. D. students conference MendelNet3, 37p.
- Salmi, H. And Sarna, S.**, 1982, Effect of silymarin on chemical, functional, and morphological alterations of the liver: a double-blind controlled study. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 17(4), 517–521p.
- Sarrami, M., Zeinali, H. and Khaniki, G. B.**, 2012, Population diversity and analysis of cytogenetic affinities between different *Silybum marianum* L. populations from Iran. The Nucleus, 55(3), 155–161p.
- Sartor, L. L. and Trepanier, L.A.**, 2003, Rational pharmacologic therapy of hepatobiliary disease in dogs and cats. Comp. Cont. Educ. Pract. 25: 432-446p.
- Schaack, S., Gilbert, C. and Feschotte, C.**, 2010, Promiscuous DNA: horizontal transfer of transposable elements and why it matters for eukaryotic evolution. Trends in Ecology and Evolution, 25(9), 537–546p.
- Schnable, P. S., Ware, D., Fulton, R. S., Stein, J. C., Wei, F. and Pasternak, S.**, 2009, The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. Science, 326(5956), 1112–1115p.
- Schulman, A. H., Flavell, A. J. And Ellis, T. N.**, 2004, The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. Mobile Genetic Elements: Protocols and Genomic Applications, 145–173p.
- SHARAF, A. A., Bahieldin, A., Ibrahim, S. A., Abdelsalam, A. Z. and Khalil, A. A.**, 2011, Biochemical and genetic characterization of 12 *Silybum marianum* accessions collected from Borg El-Arab, an Egyptian habitat. Functional Plant Science and Biotechnology, vol. 5, Special Issue 1, pp. 22–29p.
- Shedlock, A. M., and Okada, N.**, 2000, SINE insertions: powerful tools for molecular systematics. Bioessays, 22(2), 148–160p.
- Shehzad Baloch, F., Alsaleh, A., Luis E. S. M., Hatipoglu, R., Çiftçi, V., Karakoy, T., Yıldız, M. and Ozkan H.**, 2015 a, DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. Biochemical Systematics and Ecology, 61: 244-252p.
- Shete, S., Tiwari, H. and Elston, R. C.**, 2000, On Estimating the Heterozygosity and Polymorphism Information Content Value. Theoretical Population Biology 57, 265-271p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shete, S., Tiwari, H., and Elston, R. C.,** 2000, On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value. *Theoretical Population Biology*, 57(3), 265–271p.
- Shokrpour, M., Gigloo, M. T., Asghari, A. and Bahrampour, S.,** 2011, Study of some agronomic attributes in milk thistle (*Silybum marianum* Gaertn.) ecotypes from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11), 2169–2174p.
- Shokrpour, M., Moghaddam, M., Mohammadi, S. A., Ziai, S. A. and Javanshir, A.,** 2007 b, Genetic Properties of Milk Thistle Ecotypes from Iran for Morphological and Flavonolignans Characters. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(19): 3266-3271p.
- Shokrpour, M., Mohammadi, S. A., Moghaddam, M., Ziai, S. A. and Javanshir, A.,** 2007 a, Variation in flavonolignan concentration of milk thistle (*Silybum marianum*) fruits grown in Iran. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 13(4), 55–69p.
- Singh, B., Bhat, T. K. and Singh, B.,** 2003, Potential Therapeutic Applications of Some Antinutritional Plant Secondary Metabolites. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51 (19), pp 5579–5597p.
- Sindel, B. M.,** 1991, A review of the ecology and control of thistles in Australia. *Weed Research*, 31(4), 189–201p.
- Singh, J. P., Kapahi, B. K., and Sarin, Y. K.,** 1982, Ecology of *Silybum marianum* Gaertn.: a medicinal plant. *J. Econ. Taxon. Bot*, 3(2), 665–668p.
- Skottova, N., and Krecman, V.,** 1998, Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. *Physiological Research*, 47, 1–8p.
- Škottová, N., Kazdová, L., Oliarnyk, O., Večeřa, R., Sobolová, L. and Ulrichová, J.,** 2004, Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats. *Pharmacological Research*, 50(2), 123–130p.
- Smith, J. S. C., Chin, E. C. L., Shu, H., Smith, O. S., Wall, S. J., Senior, M. L., Mitchell, S. E., Kresovich, S. and Ziegler, J.,** 1997, An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*. 95, 163-173p.
- Sobolová, L., Škottová, N., Večeřa, R. And Urbánek, K.,** 2006, Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. *Pharmacological Research*, 53(2), 104–112p.
- Solberg, S., Brantestam, A. K., Olsson, K., Leino, M. W., Weibull, J., and Yndgaard, F.** (2015). Diversity in local cultivars of *Pisum sativum* collected from home gardens in Sweden. *Biochemical Systematics and Ecology*, 62, 194-203p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Souissi, T., Berner, D. K., and Smallwood, E. L.** (2005). First report of smut caused by *Microbotryum silybum* on ivory thistle. *Plant Disease*, 89(11), 1242–1242p.
- Surh, Y.-J. and Ferguson, L. R.**, 2003, Dietary and medicinal antimutagens and anticarcinogens: molecular mechanisms and chemopreventive potential—highlights of a symposium. Y.-J. Surh, L.R. Ferguson / *Mutation Research*, 523–524p.
- Svobodová, A., Zdařilová, A., Mališková, J., Mikulková, H., Walterová, D. and Vostalová, J.**, 2007, Attenuation of UVA-induced damage to human keratinocytes by silymarin. *Journal of Dermatological Science*, 46(1), 21–30p.
- Syed, N. H., and Flavell, A. J.**, 2006, Sequence-specific amplification polymorphisms (SSAPs): a multi-locus approach for analyzing transposon insertions. *Nature Protocols*, 1(6), 2746p.
- Taha, M. N., Krawinkel, M. B., and Morlock, G. E.**, 2015, High-performance thin-layer chromatography linked with (bio) assays and mass spectrometry—a suited method for discovery and quantification of bioactive components? Exemplarily shown for turmeric and milk thistle extracts. *Journal of Chromatography A*, 1394, 137–147p.
- Tang, J. Q., Korab-Laskowska, M., Jarnik, M., Cardinal, G., Vanasse, M., Melançon, S. B. and Labuda, D.**, 1995, Alu-PCR combined with non-Alu primers reveals multiple polymorphic loci. *Mammalian Genome*, 6(5), 345–349p.
- Taylor, J. L. S., Rabe, T., McGaw, L. J., Jäger, A. K., and Van Staden, J.**, 2001, Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 23–37p.
- Tedesco, D., Steidler, S., Galletti, S., Tameni, M., Sonzogni, O. and Ravarotto, L.**, 2004 a, Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Poultry Science*, 83(11), 1839–1843p.
- Tedesco, D., Tava, A., Galletti, S., Tameni, M., Varisco, G., Costa, A. and Steidler, S.**, 2004 b, Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2239–2247p.
- Tuzlacı, E.**, 2006, Türkiye bitkileri sözlüğü. Alfa Yayınları, İstanbul.
- Tyagi, A., Bhatia, N., Condon, M. S., Bosland, M. C., Agarwal, C. and Agarwal, R.**, 2002, Antiproliferative and apoptotic effects of silibinin in rat prostate cancer cells. *The Prostate*, 53(3), 211–217p.
- Voytas, D. F., Cummings, M. P., Koniczny, A., Ausubel, F. M. and Rodermel, S. R.**, 1992, Copia-like retrotransposons are ubiquitous among plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(15), 7124–7128p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wagner, H.**, 1999, Phytomedicine research in Germany. Environmental Health Perspectives, 107(10), 779p.
- Wagner, H., Diesel, P. and Seitz, M.**, 1974, The chemistry and analysis of silymarin from *Silybum marianum* Gaertn. Arzneimittel-Forschung, 24(4), 466–471p.
- Wallace, S., Vaughn, K., Stewart, B. W., Viswanathan, T., Clausen, E., Nagarajan, S. and Carrier, D. J.**, 2008, Milk thistle extracts inhibit the oxidation of low-density lipoprotein (LDL) and subsequent scavenger receptor-dependent monocyte adhesion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(11), 3966–3972p.
- Ward, P. M. L., Fasitsas, S. and Katz, S. E.**, 2002, Inhibition, Resistance Development, and Increased Antibiotic and Antimicrobial Resistance Caused by Nutraceuticals. Journal of Food Protection, 65(3), 528–533p.
- Warren, J. L. H.**, 2003, Effects of Nitrogen and Calcium Fertilization on Yield, Flavonolignans, and Anti-teratoma Activity of Greenhouse Grown “*Silybum Marianum*” University of Tennessee, Knoxville.
- Wattenberg, L. W.**, 1985, Chemoprevention of cancer. Cancer Res, 45(1), 1–8p.
- Waugh, R., McLean, K., Flavell, A. J., Pearce, S. R., Kumar, A., Thomas, B. B. T. and Powell, W.**, 1997, Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP). Molecular and General Genetics MGG, 253(6), 687–694p.
- Weisburger, J. H., Hara, Y., Dolan, L., Luo, F. Q., Pittman, B., and Zang, E.**, 1996, Tea polyphenols as inhibitors of mutagenicity of major classes of carcinogens. Mutation Research/Genetic Toxicology, 371(1), 57–63p.
- Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J. L., Capy, P., Chalhoub, B. And Schulman, A. H.**, 2007, A unified classification system for eukaryotic transposable elements. Nature Reviews Genetics, 8(12), 973–982p.
- Williamson, E. M.**, 2001, Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine, 8(5), 401–409p.
- Wills, R. B., Bone, K. and Morgan, M.**, 2000, Herbal products: active constituents, modes of action and quality control. Nutrition Research Reviews, 13(01), 47–77p.
- Wink, M.**, 1988, Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. Theoretical and Applied Genetics, 75(2), 225–233p.
- Wink, M.**, 2003, Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry, 64(1), 3–19p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yang, S. H., Lin, J. K., Chen, W. S. and Chiu, J. H.,** 2003, Anti-angiogenic effect of silymarin on colon cancer LoVo cell line. *Journal of Surgical Research*, 113(1), 133–138p.
- Yıldız, M., Koçak, M. and Baloch, F. S.,** 2015, Genetic bottlenecks in Turkish okra germplasm and utility of iPBS retrotransposon markers for genetic diversity assessment. *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 10588–10602p.
- Young, J. A., Evans, R. A. and Hawkes, R. B.,** 1978, Milk thistle (*Silybum marianum*) seed germination. *Weed Science*, 395–398p.
- Zeng, S., Liu, Y., Zou, C., Huang, W. and Wang, Y.,** 2013, Cloning and characterization of phenylalanine ammonia-lyase in medicinal *Epimedium* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 113(2), 257–267p.
- Zheljazkov, V. D., Zhalnov, I. and Nedkov, N. K.,** 2006, Herbicides for weed control in blessed thistle (*Silybum marianum*). *Weed Technology*, 20(4), 1030–1034p.
- Zid, S. A.,** 2014, Authentication of *Silybum marianum* varieties using RAPD analysis. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 24(1), 57–63p.
- 李佩芳, and others,** 2005, International Rice Genome Sequencing Project. 2005. The map-based sequence of the rice genome. *Nature* 436:, 793–800p.



ÖZGEÇMİŞ

İran'ın Zanja ilinde 27.07.1985 yılında doğmuş ilk, orta ve lise öğrenimini Zanja/Zanja'da tamamlamıştır. 2003 yılında Zanja Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünü kazanmış ve 2008 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl içerisinde Tahran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Sebze Islah ve Fizyolojisi Dalında Yüksek Lisans Eğitime başlamış ve 2011 yılında bitirmiştir. 2011 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri enstitüsü Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Doktora Eğitime girmiştir.

