

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***PRIMULA VULGARIS* HUDS.'UN MOLEKÜLER, YAĞ ASİDİ VE TOPRAK
ÖZELLİKLERİNİN ALTTÜR DÜZEYİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep ÇOLAK

HAZİRAN 2012

TRABZON

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***PRIMULA VULGARIS* HUDS.'UN MOLEKÜLER, YAĞ ASİDİ VE TOPRAK
ÖZELLİKLERİNİN ALTTÜR DÜZEYİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Biyolog Zeynep ÇOLAK

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 21.05.2012
Tezin Savunma Tarihi : 11.06.2012

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ

Trabzon 2012

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Zeynep ÇOLAK tarafından hazırlanan

***PRIMULA VULGARIS* HUDS.'UN MOLEKÜLER, YAĞ ASİDİ VE TOPRAK
ÖZELLİKLERİNİN ALTTÜR DÜZEYİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 11 / 06 / 2012 gün ve 1457/2 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ

Üye : Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ

Üye : Prof. Dr. Nurettin YAYLI

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Primula vulgaris Huds.'un moleküler, yağ asidi ve toprak özelliklerinin alttür düzeyinde değerlendirilmesi” adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek çalışmalarımın yürütülmesinde ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ' ye teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Çalışmalarımın yürütülmesi için laboratuvar ortamlarını sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI'ya ve Doç. Dr. Murat YILMAZ'a, istatistiksel analizlerimin yapılması sırasında bilgilerine başvurduğum sayın hocam Doç. Dr. Türkan ERBAY DALKILIÇ'a, laboratuvar çalışmalarımın yürütülmesinde yardımcı olan Arş. Gör. Gonca TOSUN ve Arş. Gör. Emre BABUR' a, yine laboratuvar çalışmalarımın yürütülmesi ve tezin yazılmasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Mutlu GÜLTEPE' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar ve arazi çalışmaları sırasında beni yalnız bırakmayan Elif KADIOĞLU' na, haritalarımın hazırlanmasında yardımcı olan Zeynep TÜRKER'e ve desteklerini esirgemeyen diğer tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu aşamaya gelinceye kadar ki çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyerek bana sabır ve ilgi gösteren aileme ve nişanlıma minnet, şükran, en derin sevgi ve saygılarımı sunarım.

Zeynep ÇOLAK
Trabzon 2012

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Primula vulgaris* Huds.’un Moleküler, Yağ Asidi ve Toprak Özelliklerinin Alttür Düzeyinde Değerlendirilmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ’ nin sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 21/05/2012

Zeynep ÇOLAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar (ÇİZELGELER) DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Özeti	3
1.3. ITS (Internal Transcribed Spacers)	15
1.3.1. ITS'nin Genel Özellikleri.....	17
1.3.2. ITS' nin Taksonomide Tercih Edilme Nedenleri	18
1.3.3. Taksonomik Seviyelerde Kullanımı	18
1.4. Yağ Asitleri ve Sistematikte Kullanımı.....	19
1.5. Toprak Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı.....	21
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	23
2.1. Materyalin Temini ve Saklanması.....	23
2.2. Morfolojik Çalışmalar	26
2.3. Moleküler Çalışmalar	27
2.3.1. DNA İzolasyonu.....	27
2.3.1.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Genomik DNA Tespiti	28
2.3.2. PCR Uygulamaları	28
2.3.2.1. ITS Gen Bölgesinin Çoğaltılması.....	28
2.3.3. Agaroz Jel Elektroforezinde PCR Ürünü Tespiti	29
2.3.4. Baz Dizin Analizlerinin Gerçekleştirilmesi	29
2.3.5. Veri Analizlerinin Gerçekleştirilmesi	30

2.4.	Yağ Asidi Analiz Çalışmaları.....	30
2.5.	Toprak Analiz Çalışmaları	31
3.	BULGULAR	32
3.1.	Morfolojik Bulgular	32
3.1.1.	<i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>vulgaris</i>	33
3.1.2.	<i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>sibthorpii</i> (Hoffmanns.) W.W.Sm. & Forrest	34
3.2.	Nümerik Bulgular.....	36
3.3.	Moleküler Bulgular	40
3.4.	Yağ Asidi Analiz Bulguları.....	41
3.5.	Toprak Analiz Bulguları.....	44
4.	TARTIŞMA.....	47
5.	SONUÇLAR	59
6.	ÖNERİLER	61
7.	KAYNAKLAR.....	62
	ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans

ÖZET

PRIMULA VULGARIS HUDS.'UN MOLEKÜLER, YAĞ ASİDİ VE TOPRAK
ÖZELLİKLERİNİN ALTTÜR DÜZEYİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep ÇOLAK

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ
2012, 70 Sayfa

Bu çalışmada, *Primula vulgaris* Huds.'un ülkemizde yayılış gösteren iki alttürüne ait 18 popülasyonu nrDNA ITS bölgeleri, morfolojik, yağ asidi ve toprak özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. İncelenen bitki materyali ve toprak örnekleri araştırma alanı olarak seçilen bölgeden 2011 yılında yapılan arazi çalışmalarıyla toplanmıştır. Toplanan örnekler geleneksel yöntemlere göre herbaryum örneği haline dönüştürülerek üzerinde gerekli morfolojik ölçümler yapılmıştır. Çeşitli ülke floralarında adı geçen ve/veya bu çalışmada ilk defa tespit edilen karakterler kullanılarak bir teşhis anahtarı hazırlanmıştır. Alttürleri ayırmada etkili olan karakterin yaprak alt yüzeyi tüylenme durumu olduğu tespit edilmiştir. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*'ye ait 18 popülasyon nrDNA ITS profilleri bakımından analiz edilerek taksoniçi ve taksonlararası benzerlik ilişkisini gösteren parsimoni ağacı (MP) oluşturulmuştur. MP ağacında dalların subsp. *vulgaris* ve subsp. *sibthorpii* ye karşılık gelen iki grup altında toplandığı görülmüştür. ITS bölgesinin subsp. *vulgaris* de 708-713 bp uzunluk aralığında, % GC içeriğinin ise 52,8-53,2 arasında değiştiği; buna karşılık subsp. *sibthorpii*'nin ise ITS bölgesinin 716-711 bp arasında bir uzunluğa ve 53,1-53,3 % GC içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Alttür düzeyinde ve çeşitli yükselti esas alınarak yapılan yağ asitleri (%) analizinde taksoniçi ve taksonlar arasında fark tespit edilememiştir. Yapılan toprak profili incelemeleri sonucunda yalnızca yükselti istikametinde toprak tekstürü ve pH'nın alttür düzeyinde anlamlı şekilde değiştiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Primula vulgaris* Huds., ITS, Yağ asidi, Toprak, Morfoloji

Master Thesis

SUMMARY

A COMPARATIVE STUDY ON *PRIMULA VULGARIS* HUDS. IN TERMS OF MOLECULAR, FATTY ACIDS AND SOIL PROPERTIES AT SUBSPECIFIC LEVEL

Zeynep ÇOLAK

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Kamil COSKUNCELEBI
2012, 70 Pages

In this study, 18 populations of two subspecies of *Primula vulgaris* Huds. distributed in Turkey were investigated based on nrDNA ITS, phenetic, fatty acid and soil properties. Plant material and soil samples used in this study were collected from the selected localities during the field work in 2011. Firstly samples collected from the selected localities were dried according to the herbarium techniques and they were used for further morphological observations and examinations. After further examinations, an identification key was prepared for *P. vulgaris* at subspecific level. During the preparation of the keys we generally followed flora of Turkey and various national flora books and also examination of the samples used in the present study. The states of pubescence of leaves beneath are the most important traits in distinguishing the subspecies. nrDNA ITS profiles for 18 populations belong to subspecies were also analyzed to represent phylogenetic relationship at intra and interspecific level among the examined populations. Maximum Parsimony (MP) analysis shows that all the examined population fall in two distinct cluster corresponding to traditionally treated as the subsp. *vulgaris* and subsp. *sibthorpii*. It was found that length of ITS region is 708-713 bp and GC % content varies 52,8-53,2 in subsp. *vulgaris*, on the other hand the length of ITS region is 716-711 and GC % content varies 53,1-53,3 in subsp. *sibthorpii*. It was also found that there are no significant differences among populations of *P. vulgaris* at subspecific level and different altitudes with respect to fatty acids content (%), but only the texture type and pH among the soil properties varies significantly depending on altitudes in the examined populations of *P. vulgaris*.

Key Words: *Primula vulgaris* Huds., ITS, Fatty acid, Soil, Phenetic

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. <i>P. vulgaris</i> Huds.'un Türkiye'deki yayılışı	5
Şekil 2. ITS bölgelerinin genomik DNA üzerindeki yerleşimi	15
Şekil 3. ITS primerlerinin rDNA bölgesi üzerindeki bağlanma yerleri	16
Şekil 4. Örneklerin toplandığı noktalar	23
Şekil 5. <i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>vulgaris</i>	34
Şekil 6. <i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>sibthorpii</i> (Hoffmanns.) W.W.Sm. & Forrest	36
Şekil 7. İncelenen populasyonların morfolojik karakterlere göre durumu	39
Şekil 8. ITS verilerinin MEGA programı ile analizinden elde edilen Maksimum Parsimoni ağacı	41
Şekil 9. Şemsiye çiçek kuruluna sahip <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	48

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Çalışmada kullanılan bitkilere ait toplama bilgileri.....	25
Tablo 2. Fenetik analizde kullanılan morfolojik karakterler.....	26
Tablo 3. Nümerik analizlerde kullanılan ham veri matrisi.....	38
Tablo 4. Farklı sayıda morfolojik karakter kullanılarak yapılan PCA analizinde elde edilen temel bileşenler varyasyon değerleri (%).....	40
Tablo 5. <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> taksonlarının yağ asidi içerikleri (%).....	43
Tablo 6. <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> taksonlarına ait toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	45
Tablo 7. <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> taksonlarına ait toprak örneklerinin elementer analizleri	46
Tablo 8. <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> ' de yağ asidi içerikleri (%).....	52
Tablo 9. Farklı çiçek rengine sahip populasyonların yağ asidi içerikleri (%).....	52
Tablo 10. Farklı yükseltilerden toplanan populasyonlarda yağ asidi içerikleri (%)	53
Tablo 11. Beyaz çiçekli <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> örneklerinde yağ asidi içeriği (%).....	53
Tablo 12. <i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> 'nin bulunduğu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	54
Tablo 13. Farklı çiçek rengine sahip populasyonların bulunduğu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri	55
Tablo 14. Çalışılan taksonlarda toprak özelliklerinin yüksekliğe göre değişimi	56
Tablo 15. Beyaz çiçekli <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> ve <i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i> ' ye ait toprak özellikleri	57

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Artırılan Parça Uzunluğu Farklılığı
bp	: Baz çifti
cpDNA	: Kloroplast DNA
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleozit trifosfat
dH ₂ O	: Distile su
EC	: Elektriksel iletkenlik
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ETS	: External Transcribed Spacer
FAMEs	: Yağ Asiti Metil Esterleri
FSK	: Faydalanılabilir Su Kapasitesi
g	: Gram
IGS	: Intergenic Spacer
ITS	: Internal Transcribed Spacer
KTUB	: KTU Biyoloji Bölümü Herbariumu
m	: Metre
<i>matK</i>	: Maturase K geni
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
MP	: Maksimum Parsimoni
mRNA	: Mesajcı RNA
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
nrDNA	: Nüklear ribozomal DNA
NTS	: Non Transcribed Spacer
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVPP	: Poli Vinil Poli Piroolidan
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: Ribozomal RNA
SNSM	: Solma Noktası Su Miktarı

TAE : Tris-Asetik asit-EDTA
Taq : *Thermus aquaticus*
TE : Tris-EDTA
TKSM : Tarla Kapasitesi Su Miktarı
tRNA : Taşıyıcı RNA
 μ l : Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Çalışma konusunu oluşturan *Primula vulgaris* Huds. türü; Primulaceae familyasının en büyük cinsi olan *Primula* L. cinsinin önemli bir üyesidir. Yaprakları tabanda rozet şeklinde toplanmış, öbekler halinde büyüyen, soğuğa dayanıklı, çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçekleri beyaz, sarı, pembe, leylak ve mor gibi değişik renk yelpazesine sahiptir. Bu tür yazları serin ve nemli; kışları ise nispeten ılıman olan habitatlarda yayılış gösterir. Işıktan, çok asidik ve aşırı su çekmiş topraklardan kaçınır. Genellikle sahile yakın kuzey veya kuzeye dönük çayırlarda ve orman içi açık alanlarda bulunur (Richards, 2003).

P. vulgaris türü Avrupa-Sibirya kökenli olup Türkiye' nin kuzey ve güneyi ile Batı, Güney ve Orta Avrupa, Kuzeybatı Afrika, Transkafkasya ve Lübnan'a kadar uzanan geniş bir coğrafyada yayılış gösterir. Tür, genel olarak ülkemizde deniz seviyesinden 2400 m' ye kadar yayılış gösterebilirken, Avrupa'da yayılışı genellikle 1500 m' yi aşmaz. Genel olarak türün çiçeklenme zamanı Mart-Mayıs (Kuzey'de Haziran) ayları arasında olmakla beraber, bulunduğu çevreye ve iklim şartlarına bağlı olarak değişebilir.

P. vulgaris türü dünyada beş alttürle temsil edilirken Türkiye'de *P. vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns)W.W.Sm. & Forrest. olmak üzere iki alttür ile temsil edilmektedir. Bunlardan alttür *vulgaris* Türkiye' nin Kuzey ve Güney bölgelerinde 500-2100 m arasında yayılış gösterirken, diğer alttür olan *sibthorpii* yalnızca kuzey kesimlerinde 0-850 m yükseklik arasında yayılış gösterir. Ülkemizde de nemli alanlarda, fındık bahçelerinde, dere kenarlarında, açık ya da gölgeli taşlık ya da çimenlik yamaçlarda yayılış gösteren türün çiçeklenme zamanı Şubat-Haziran aylarıdır.

P. vulgaris türü, tüm dünyada gerek süs bitkisi ve gerekse tıbbi bitki olarak önemli bir kullanım alanına sahiptir. Tür içi çaprazlamalardan kararlı melezler elde edilmesi, bu türün yaygın şekilde süs bitkisi olarak kullanılmasına ve kültüre edilmesine sebep olmaktadır (Mizuhiro vd., 2001). Türün yaprak ve rizomlarından elde edilen özütlerin bazı hastalıklarının tedavisinde eski tarihlerden bu yana yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (Prajapati vd., 2003).

P. vulgaris; ekonomik değerinin ve tıbbi kullanımının olması, doğal hibritleşmenin sıkça oluşabilmesi, heterositulus özelliğine ve çiçek rengi polimorfizmine sahip olması,

ekolojik yönden dünyanın değişik yerlerinde yayılış gösterebilmesi, farklı iklim şartlarına uyum sağlayabilmesi gibi pek çok önemli özelliğinden dolayı başta sistematikçiler olmak üzere, ekologlar ve genetikçiler tarafından araştırılmış ve halen araştırılmaya devam edilmektedir.

P. vulgaris subsp. *vulgaris* ve *P.vulgaris* subsp. *sibthorpii* alttür seviyesinde adlandırılmış olmasına rağmen, ülkemizin kuzey kısımlarında aynı habitat içerisinde doğal olarak bulunmakta ve morfolojik açıdan birbirleriyle oldukça benzerlik göstermektedir. Bu durum, taksonları kesin sınırlarla birbirinden ayırmada çoğu zaman güçlükler sebep olmaktadır. Doğal ortamlarında hibritleşmelerin kolaylıkla meydana gelmesi ve benzer çiçek rengine sahip bireylerin benzer yüksekliklerde bulunması bu iki taksonu yalnızca çiçek ve yüksekliğe bağlı olarak ayırt etme konusunda güçlükler doğurmaktadır. Bu nedenle bu iki taksonu doğal ortamlarında ayırt etmede etkili ilave karakterlere gereksinin vardır.

Son yıllarda bitki türlerinin tanımlanmasında morfolojik karakterlerin yanı sıra moleküler verilerin kullanılması hız kazanmıştır (Mummenhoff vd., 1997). Bu amaçla genomik DNA, mtDNA ve cpDNA üzerindeki birçok özel bölgeden yararlanılmaktadır. Özellikle daha önceden kullanılan morfolojik karakterlerle çözüme kavuşturulamayan pek çok sistematik problem, moleküler verilerden elde edilen deliller sayesinde aşılabilmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden birisi de nrDNA bölgesi üzerinde bulunan ITS (Internal Transcribed Spacers) PCR'dir. ITS bölgeleri, bitkilerdeki moleküler sistematik çalışmalarında son yıllarda sıklıkla kullanılan bir bölge haline gelmiştir (Baldwin vd., 1995). Yapılan bu türlü çalışmalarda, taksonların nrDNA ITS bölgeleri çoğaltılıp baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki akrabalık dereceleri belirlenmektedir.

Morfolojik ve moleküler verilerin yanı sıra bazı taksonomik problemlerin çözümünde son yıllarda biyokimyasal ve ekolojik özellikler de kullanılabilir.

Biyokimyasal karakterler 100 yılı aşkın bir zamandan beri bitki sistematğinde kullanılmaktadır. Bitkiler için kullanılan biyokimyasal karakterlerden biri olan yağ asidi profillerinden taksonomide sıklıkla yararlanılmaktadır. Pek çok çalışmada birçok tür için yağ asidi içerikleri kemotaksonomik karakterler olarak kullanılmıştır. Bünyelerindeki yağ asidi içeriği bitkiler arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde ilgilenilen bitki için karakteristik bilgi sunmaktadır (Goffman vd., 1999; Bağcı vd., 2004).

Ekolojik olarak bitki çimlenmesi, gelişimi ve hayat evresini tamamlaması oldukça önemlidir. Bitkinin gelişmesinde önemli bir unsur olan toprağın içermiş olduğu makro ve mikro besin elementleri ekolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Toprak özelliklerinin ve bileşiminin üzerinde yetiştiği bitkiye olan önemli etkileri göz önünde bulundurularak, birçok sistematik çalışmada toprak parametreleri ayırt edici özellik olarak kullanılmıştır. Araştırmaya konu olan *P. vulgaris* Huds. türünün iki taksonu arasındaki renk polimorfizminin nedenini araştıran Shipunov vd. (2011) çalışmalarında taksonlara ait toprak pH' larını karşılaştırmıştır. Yine bu iki alt türün Samsun ilinde yetişen popülasyonlarıyla yapılan bir çalışmada toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri bu iki alttürün karşılaştırılmasında bir parametre olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada, yukarıda kısaca özetlendiği üzere morfolojik ve daha birçok veriye dayalı olarak araştırılan; ancak taksonomik karmaşıklığı tam olarak çözilemeyen *P. vulgaris* türünün, ülkemizde en yoğun olarak yayılış gösterdiği alanlardan birinden yüksekliğe bağlı olarak toplanan çok sayıda popülasyonunun moleküler, toprak profili ve yağ asitleri bakımından karşılaştırmalı bir şekilde ele alınıp incelenmesi amaç edinilmiştir. Böylece araştırma bölgesinde yayılış gösteren *P. vulgaris*' in iki alt türü moleküler, toprak profili ve yağ asidi içerikleri bakımından ilk defa değerlendirilerek, bu iki alt tür arasındaki ayırmda kullanılabilecek yeni kriterler belirlenmeye çalışılmaktadır.

1.2. Literatür Özeti

Primula vulgaris Huds. türü; Primulaceae familyasının en büyük cinsi olan *Primula* L. cinsinin önemli bir üyesidir. *Primula* L. cinsi, dünyada 425 tür ile temsil edilmektedir (Mast vd., 2001). Lamond'a (1978) göre *Primula* cinsi ülkemizde 3 alt cinste yer alan 8 tür ve bu türlere bağlı 11 takson ile temsil edilmektedir. Bunlardan *P. davisii* W.W. Sm ve *P. longipes* Freyn & Sint. taksonları, ülkemizin önemli gen kaynakları içinde yer alan endemik bitkilerdir.

Cins üzerindeki geleneksel sistematik çalışmalar daha çok heterositulus, homositulus, polen morfolojisi, temel kromozom sayısı, yaprak vernasyonu, ve farinanın varlığı-yokluğu üzerine yoğunlaşmaktadır (Mast vd., 2001). *Primula* cinsinde filogenetik akrabalıkların değerlendirilmesinde bu karakterlerin varsayılan önemine rağmen, çoğu zaman taksonları ayırt etmede iyi sonuçlar ortaya koymamaktadırlar. Bu nedenle çok

sayıda örnekleme yoluyla yapılan moleküler çalışmalar, taksonların filogenetik ilişkilerini açıklamada bağımsız filogenetik hipotezler sunabilir (Mast vd., 2001).

Primulaceae familyasında heterositulus ve alternatif bir sistem olan homositolus cins ve cins içi seviyelerde sistematik çalışmalarda önemli yer işgal etmektedir (Richards, 2003). *Primula* cinsine ait türlerin yaklaşık % 91' i heterositulus, % 9' u ise homositolus göstermektedir.

Bu cinsin üyeleri, kromozom sayılarındaki ve morfolojilerindeki varyasyon nedeniyle sitotaksonomistlerin de ilgisini çekmektedir. Türkiye'de yayılış gösteren bazı türlerin kromozom sayıları (Hayırlıoğlu-Ayaz ve İnceer, 2003), polen morfolojileri (Pınar vd., 2005), anatomik özellikleri incelenmiştir (Beyazoğlu, 1989).

P. vulgaris türü' nün dünyadaki yayılışı oldukça geniştir. Güney Norveç, Danimarka, İngiliz adaları, İngiltere, Fransa, İtalya, İsviçre, Kuzey Almanya, Yugoslavya, Yunanistan, Belçika, Güneybatı Ukrayna, Türkiye, Kırım, Ermenistan, Avusturya'nın alpin bölgeleri, Kafkaslar ve Hazar denizinin güney kıyıları türün yayılış alanlarındandır. Akdeniz adalarının birçoğunda bulunur; fakat Sardunya ve Kıbrıs'da bulunmamaktadır. Kuzey Afrika'da Cebelitarık'dan Tunus'a kadar olan bölgede, Suriye, Lübnan ve İsrail'de yayılış göstermektedir (Richards, 2003). Hegi (1975)' ye göre tür Kuzey Afrika'ya kadar ulaşan tek *Primula* türü olarak bilinir (Jacquemeny vd., 2009). Castroviejo vd., (1997)' ye göre *P. vulgaris*'in en bol bulunduğu yerler kıyı bölgeler olmasına rağmen İspanya ve Portekiz'de geniş bir yayılım gösterir (Jacquemeny vd., 2009). Avrupa'daki dağılımı boyunca yaygın *P.vulgaris* taksonları hemen hemen tek renklidir (genellikle sarı çiçekli). Oysa doğu bölgelerde (Kafkaslar, Yunanistan, Türkiye, İran (Kırım hariç)) çok renklidir. Populasyonlarının çoğunda sarı çiçekli bitkilere ek olarak, beyaz çiçekli, pembe, leylak rengi ve mor gibi farklı tonlarda çiçekler bulunur (Richards 2003).

Tür ülkemizde *P. vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns)W.W.Sm. & Forrest. olmak üzere iki alttür ile temsil edilmektedir. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* taksonu Türkiye' nin Kuzey ve Güney bölgelerinde (Adana, Bolu, Kastamonu, Amasya, Aydın, Bursa, Hatay, Kayseri, Kahramanmaraş, Samsun, Trabzon), *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonu ise Türkiye' nin yalnızca kuzey kesimlerinde (İstanbul, Zonguldak, Kastamonu, Artvin, Bursa, Ordu, Sinop, Tekirdağ, Trabzon) yayılış gösterir (Lemond, 1978). Türün ülkemizdeki yayılış alanları Şekil 1'de verilmiştir.

Bruun (1932) ve Löve ve Löve (1961)' ye göre *Primula* seksiyonun diğer tüm üyelerinde olduğu gibi *P. vulgaris* de diploittir ve $2n=22$ somatik kromozomludur (Jacquemyn vd., 2009).

Brown (1995)'a göre tür, tıbbi kullanımda oldukça uzun bir tarihe sahiptir ve özellikle spazm, kramp, felç ve romatizmal ağrıların tedavisinde kullanılır. Ayrıca bitki, balgam söktürücü etkisi olan saponinleri ve kimyasal olarak aspirinle akraba olan; ağrı kesici, enfeksiyon giderici, ateş düşürücü etkisi olan salisilatları içerir (Jacquemyn vd., 2009). Grieve (1931)'e göre bitkin kökleri ve çiçekli bitki ağrı kesici, spazm çözücü, sıkılaştırıcı, kusturucu, sedatif ve solucan ilacı olarak kabul edilmiştir. Ayrıca Köklerin infüzyonu, sinirsel baş ağrılarına karşı iyi bir çözümdür (Jacquemyn vd., 2009).

Tür üzerindeki geleneksel sistematik çalışmalar daha çok heterositulus, hibritleşmeler, habitat etkisi, sıcaklık etkisi, ekolojik dağılımı, tarımsal yönü (kültürel formları) ve renk polimorfizimi üzerine yoğunlaşmaktadır. Yapılan literatür çalışmalarında *P.vulgaris* ile ilgili birçok çalışmaya rastlanmıştır ve bu çalışmaların çoğunun ekolojisi (Selander ve Welander, 1984; Whale,1984), taksonomisi (Brumitt, 1993) ve morfolojisi (Curtis ve Curtis, 1985; Webster ve Grant, 1990) ile ilgili olduğu görülmüştür.

Rusya'nın Kuzeydoğu Karadeniz kıyıları boyunca Novorossiysk ve Pitsunda şehirleri arasında 250 km boyunca yapılan örneklemeler doğrultusunda *P. vulgaris* türünün alttür *vulgaris* ve alttür *sibthorpii* taksonları için geçiş zonlarında bulunan karışmış popülasyonlarının yükselti ve örneklem aralığına göre renk polimorfizimleri araştırılmıştır. Yapılan incelmeler sonucunda kuzey batı popülasyonlarından güneybatı popülasyonlarına doğru ani geçiş zonlarında koyu renkli çiçeklerin oranında önemli bir artış olduğu gözlenmiş ve bu zonlarda mekansal eğilimlerin yükselti ve sahilden uzaklıkla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada bitkiler için toprak pH değerleri de ölçülmüş; fakat pH değerlerinin renk özellikleriyle ilişkili olmadığı bulunmuştur. Bunun dışında renk özelliklerinin morfolojik karakterlerle de ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca korolla renginin bu iki taksonu alttür olarak ayırmada yeterli olabilecek güvenli bir karakter olmadığını bu iki taksonun alttür olarak adlandırılabilmesi için güvenilir morfolojik ya da moleküler karakterlerle desteklenmesi gerektiğini sonucuna varmıştır (Shipunov vd., 2011).

P. vulgaris' in çiçeklerine renk veren; epidermal hücrelerin vakuol özsuyunda bulunan, ortamın pH' ına göre kırmızı, mavi, mor renkli tepkime verebilen ve suda çözünen bir flavonoid olan antosiyanindir (Ünal vd., 2003). 2003 yılında yapılan bir

çalışmada *P. vulgaris*' in antosiyanin içeriği araştırılmıştır. Tür üzerinde yapılan analiz sonucu antosiyaninin; kökte, spatulat yaprağın bazal kısmında, uzun çiçek sapının taban kısmında diğer yapılara göre daha fazla ve özellikle çiçek petalinin alt ve üst epidermis hücrelerinde çok fazla sentezlendiği tespit edilmiştir (Ünal vd., 2003).

Fransa'nın Alplerinin güney kısmında bulunan Champsaur Vadisi'nde yapılan bir çalışmada; direkt ve indirekt yaklaşımlar kullanılarak zıt özelliğe sahip (yoğun ve seyrek) iki farklı çalılık ağında yetişen *P. vulgaris* populasyonlarının polen akışı, çiftleşme performansı ve tohum dağılımı incelenerek gen akışı yoluyla bağlantı sağlayıp sağlayamadıkları araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde, tohum dağılımının ihmal edilebilir mesafelere ulaştığı ve iki çalılık ağ arasında hiçbir fark gözlenmediği belirtilmiştir. Bal arısı sineği (*Bombylus sp.*) aktivitesi vasıtasıyla olan polen akışının ise yoğun çalılık ağında engellendiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, çalışma bölgesinde *P. vulgaris*' in kısmen kendine uyumlu olduğu bulunmuştur. Ek olarak, iç melezleşme (kendi soyundan çiftleşme) değerlerinin yoğun çalılık ağında daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Sonuç olarak yoğun çalılık ağının türe, gen akışı açısından mutlak bir bağlantı sağlamadığı ileri sürülmüştür (Campagne vd., 2009a).

Yapılan bu çalışmanın bir devamı olarak başka bir çalışmada aynı verilerle *P. vulgaris*' in çalılık ağındaki genetik bağlantı işaretleri araştırılmış. Bu çalışmada tamamlayıcı bir genetik yön incelenmiştir. Yani gen akışı üzerinde peyzajın fiziki bağlantıdaki rolü araştırılmıştır. Önceki çalışmalarının sonuçları aksini desteklese de; bu çalışmada habitat bitişikliğinin gen akışı sınırlamasına sebep olduğu hipotezi kurulmuştur. *P. vulgaris* türünün genetik bağlantısı üzerine peyzaj düzeninin etkisi AFLP markırları kullanılarak araştırılmıştır. Yakınlıkları ve farklılaşma oranları arasındaki genetik benzerlikler ile ilgili detaylı analizler, çalılık ağlarının yoğunluğunun gen akışına engel olduğunu göstermiştir. Bu nedenle yüksek derecede habitat bitişikliğinin genetik bağlantılılığı mutlak olarak teşvik etmediği sonucuna varılmıştır (Campagne vd., 2009b).

Belçika'da *P. vulgaris* nadir ve azalmakta olan bir türdür ve küçük populasyonlar halinde bulunmaktadır. Belçika'nın kuzeybatısında tarımsal bir arazide bu türün populasyonlarının 1986-1999 yılları arasındaki 13 yıllık süreçteki zamansal değişimi araştırılarak bir takım koruma önerilerinde bulunulmuştur. Bu çalışmaya göre; tür küçük populasyonlar (10 bireyden az) halinde bulunmaktadır ve azalma eğilimi göstermektedir. Populasyonlarda az sayıda genç birey, yüksek oranlarda yaşlı yetişkin ve eşit olmayan çiçek morfolojili bireyler bulunmaktadır. 13 yıllık süre boyunca küçük populasyonluların

büyük popülasyonlulara göre daha çok yok olma eğilimi gösterdikleri bildirilmiştir. Ekilebilir alanlar etrafındaki hendeklerdeki popülasyonların azalmaya daha elverişli olduğu bulunmuştur (Endels vd., 2002).

Belçika'da yapılan başka bir çalışmada habitatın popülasyon büyüklüğünde önemli varyasyonlara sebep olmasına rağmen habitat tipiyle, türün üreme ve vejetatif karakterleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak küçük popülasyonlarda büyük popülasyonlara göre bitki başına üretilen tohum miktarının, oldukça az olduğu tespit edildiğinden, popülasyon büyüklüğünün üreme başarısını güçlü bir şekilde etkileyebileceği kanaatine varılmıştır. Herhangi bir üreme özelliği ya da popülasyon büyüklüğüyle etkileşim sebebiyle morfolojilerinde oluşan önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır. Morfolojik frekansı güçlü olsa bile, çiçeklerin meyve oluşturma oranı ve her meyvenin verdiği tohum sayısının bu ortak morfolojiye sahip bireylerde düşük olduğu tespit edilmiştir (Brys vd., 2004).

Yine Belçika'da yapılan bir çalışmada parçalanmış tarım alanlarında *P. vulgaris*' in yetişkin ve fide popülasyonlarının genetik çeşitliliği araştırılmıştır. Genetik varyasyonu araştırmak için yetişkin ve fide yaşam evrelerindeki bitkilerde polimorfik mikrosatellit lokusları kullanılmıştır. Son nesilde gözlenen heterozigotluğun, beklenen en düşük heterozigotluktan önemli bir düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda hem yetişkin bireylerde hem de fidelerde mesafe ile izolasyon olmadığı kararına varılmıştır (Van Geert vd., 2008).

Van Geert vd. (2006) yaptığı çalışmada *P. vulgaris* türüne ait mikrosatellit lokuslarının izolasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen sekansları *P. elatior* ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda *P. vulgaris* için sadece üç, *P. elatior* için ise sadece iki mikrosatellit lokusu başarıyla açıklanabilmiştir. *P. vulgaris*' de her lokus başına 4-11 arası allel, *P. elatior*' da her lokus başına 8-11 arası allel bulunmuştur. Beklenen heterozigotluğun sırasıyla *P. vulgaris* ve *P. elatior* için 0,496-0,620 ve 0,830-0,880 arasında değiştiği bulunmuştur.

Diğer bir çalışmada İngiltere' de yol ve tarla kenarında yetişen *P. vulgaris* bitkisi üzerinde bir ekolojik modelde tarım tekniklerinin uygulanması gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucu türün, uygulanan geniş spektrumlu herbisit ve makineyle biçme, tırpanla biçme gibi tarımsal yönetim tekniklerine karşı çok duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Fargue-Lelièvre vd., 2011).

P. vulgaris türünün kök epidermislerindeki büyüme ve farklılaşma düzeyi (Lux ve Luxová, 2003), deneysel populasyonlarında tozlaşma başarısı ve üreme faaliyetleri araştırılmıştır (Brys vd., 2007).

P. vulgaris türü cinsin diğer türleri gibi çiçek heteromorfisi gösterir. İki farklı çiçek formu vardır. Gösterdiği bu iki farklı çiçek formu pin (uzun stiluslu) ve thrum (kısa stiluslu) olarak bilinir. Bu iki farklı çiçek formunun gelişimi S-lokus olarak bilinen bağlantılı bir gen gurubuyla kontrol edilir (Li vd., 2011). *P. vulgaris*' in heterositulus özelliğine sahip olması da birçok araştırmaya konu olmasına sebep olmuştur. Türün heterositulus özelliği eski tarihlerden bu yana çalışılmaktadır. Haldane, 1938 yılında yaptığı çalışmasında *P. vulgaris*' in doğal populasyonlarında heterositulus özelliğini araştırmıştır. 1944 yılında yapılan başka bir çalışmada *P. vulgaris*'deki çiçek rengi ve heterostilus özelliğindeki farklılıklar çalışılmıştır (Marsden-Jones ve Turril, 1944).

2005 yılında yapılan bir çalışmada *P. vulgaris*' in S-lokusundan elde edilen DNA sekanslarının moleküler karakterizasyonu çalışılmıştır. *Primula* S-lokusu için ilk moleküler markır bu çalışmada bildirilmiştir. Kullanılan DNA sekansı polimorfik DNA' nın rastgele çoğaltılması ile (RAPD-PCR) tespit edilmiştir (Menfield vd., 2005).

Türün heterostilus özelliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada S-lokusu da kapsayan S-lokus bağlantılı dört bölgele içindeki genlerin dizin analizleri ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (Li vd., 2011).

Yapılan başka bir çalışmada *P. vulgaris*' in gelişmekte olan çiçeklerinin morfolojileri arasındaki ayırıcı genler belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma ile türün thrum ve pin çiçeklere sahip olan üyelerinin gelişmekte olan ve olgun bitkisel dokularından çıkarılan bir cDNA kütüphanesi elde edilmiştir. Çalışma sonucunda cDNA' ların hiçbirinin S-lokusun kendi bileşeni olmadığı öne sürülerek *Primula* S-lokus ile bağlantılı görülmemiştir (McCubbin vd., 2006).

Tür içi çaprazlamalardan kararlı melezler elde edilmesi bu türün yaygın şekilde süs bitkisi olarak kullanılması ve kültüre edilmesine sebep olmaktadır (Mizuhiro vd., 2001). *P. vulgaris* türü üzerine yapılan birçok çalışmada türün kültür formları kullanılmaktadır. 2002 yılında yapılan bir çalışmada *P. vulgaris*' de çiçeklenmeye başlama zamanı üzerine sıcaklık, fotoperiod ve günlük ışık bütünü (DLI) etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada türün kültür formları kullanılmıştır. Tohumlar ekildikten 30 gün sonra farklı fotoperiyot, farklı DLI ve farklı sıcaklık derecelerine maruz bırakılarak parametrelerin ayrı ayrı etkilerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda en hızlı çiçeklenme

şartının 14 saat fotoperiyot, her gün 11 mol m⁻² günlük ışık ve 13 °C sıcaklık olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak sıcaklık, fotoperiyod ve DLI' nin çiçeklenmeye başlama zamanını önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir (Karlsson, 2002).

Başka bir çalışmada, *P. vulgaris*' in geç evre çiçek gelişimi analizi ile hücre morfolojisinde ve çiçek heteromorfisindeki zamansal yeni farklılıkların ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Çalışmada yine türün kültüvar formlarından biri kullanılmıştır. Bunun dışında pin ve thrum çiçeklerde korolla tüp ağız ölçümü için kardeş soy sağlamak amacıyla kullanılan kırmızı *P. vulgaris* bir bahçe merkezinden elde edilen ticari bir bitkidir ve yabani tip çiçeklerin tohumlarından yetiştirilen yabani tip çuha çiçeği (*P. vulgaris*) ile çaprazlandıktan sonra çalışmada kullanılmıştır. Tarama elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak pin ve thrum çiçeklerin korolla tüpünün üst ve alt dokuları incelenmiş, hücre genişlikleri ve boyları ölçülerek karşılaştırılmıştır. Ayrıca pin ve thrum çiçeklerin korolla ağızlarının çapı ölçülmüştür. Bunun dışında pin ve thum çiçeklerin gelişme aşamaları karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda; sitil uzunluğu pin çiçeklerde thrumdan daha uzun hücreler olmasıyla ayırt edilmiştir. Ancak korolla tüpündeki hücre şekli ve hücre boyutlarındaki çalışmaları sonucu pin ve thrum çiçeklerde anterlerin farklı yükseklikte bulunmasına başka bir mekanizmanın sebep olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar ayrıca üst korolla tüpü hücrelerinin thrum çiçeklerde pin çiçeklerinkine göre daha geniş olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca thrum çiçeklerde korolla tüpü ağzının pin çiçeklerinkinden daha geniş olduğu ilk kez bu çalışmada tespit edilmiştir. Bu pin ve thum çiçekler arasında yeni bir heteromorfik varyasyon olarak belirlenmiştir (Webster vd., 2006).

P. vulgaris türü sıcaklık değişiminden oldukça fazla etkilenen bir bitkidir. Bu nedenle sıcaklık değişiminin türe etkisi ve bitkinin sıcaklığa verdiği cevap çok eski tarihlerden bu yana araştırılmaktadır. Yapılan bir çalışmada *P. vulgaris* bitkisinin iki farklı kültür formunda sıcaklığın çiçeklenmeye olan etkisi araştırılmış ve hangi kültüvar formun sıcaklık değişimlerine daha fazla toleranslı olduğu tespit edilmiştir (Selander ve Welander, 1984).

P. vulgaris türü birçok ekolojik çalışmaya da konu olmuştur. 2009 yılında bir çalışmada bitkilerin parçalanmış ortamda yaşamaya cevabını değerlendirmek için Cantabrian Dağları'nda yaşayan populasyonları araştırılmış ve parçalanma sürecinin (özellikle habitat yokluğu) türün bolluğunu ve yayılışını olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir (Valdés ve García, 2009). Başka bir ekolojik çalışmada *Primula* cinsine ait bazı türlerin (*Primula vulgaris* Huds., *P. veris* L. ve *P. elatior* (L.) Hill) habitat gereksinimleri

araştırılmıştır. Bu türler kuraklık, su baskını ve gölgeye toleransları açısından karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucuna göre su baskınına toleransı en yüksek olan türün *P. elatior*, en düşük olanın ise *P. veris*; kuraklığa toleransı en yüksek olan türün *P. veris*, en düşük olanın ise *P. elatior* olduğu tespit edilmiştir. Gölgeye tolerans açısından karşılaştırıldığında ise her üç türünde derin gölgede toplam biyomas, çiçek ve tohum oluşumu açısından zamansal farklılıklar olmakla birlikte yaşayabildiği gözlenmiştir (Whale, 1984). Ayrıca aynı taksonlarla yapılan başka bir çalışmada 48 saat içindeki fotosentez oranının en yüksek olduğu türün *P. vulgaris* olduğunu tespit etmiştir (Whale, 1983a). Buna benzer şekilde Woodell (1969) yaptığı çalışmada kuraklığa tolerans açısından en yüksek olanın *P. elatior* olduğunu, *P. vulgaris*'in tolerans açısından *P. veris* ve *P. elatior* arasında olduğunu göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada *P. vulgaris* ve *P. elatior* türlerinin ekolojisi ve taksonomisi üzerine bazı araştırmalar yapılmış ve çalışma sonucunda *P. elatior*'un ıslaklık şartlarına *P. vulgaris*'ten daha toleranslı olduğunu gösterilmiştir (Valentine, 1948).

Başka bir çalışmada, bir tarım alanında *P. vulgaris*'in demografik özellikleri üzerine habitat etkisi araştırılmıştır. Bu araştırmalar sırasında edafik faktörlerden (toprakla ilgili) de yararlanılmıştır. Türün dinamik, normal ve yaşlanan olmak üzere üç popülasyonu araştırılmıştır. Sonuç olarak yetişkin ve fide yoğunluğunun vejetasyon yüksekliği ile negatif yönde ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Endels vd., 2004).

Diğer bir çalışmada genetik erozyonun, çok yıllık bir bitki olan *P. vulgaris*'in popülasyonlarındaki bozulmaya ve yıllık değişimine olan etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, yerel ve bölgesel çevresel değişkenler ile birlikte, genetik çeşitliliğin de çok yıllık bitki türlerinin nüfus yaşayabilirliğinin belirlenmesinde anahtar bir rol oynayabileceğini kararına varılmıştır (Endels, 2007).

P. vulgaris'in iki alt türünün Samsun ilinde yetişen popülasyonlarıyla yapılan bir tez çalışmasında iki alttürün fenotipik plastisiteleri karşılaştırılmış ve çalışma sonucuna göre alttür *sibthorpii*'nin alttür *vulgaris*'e oranla daha geniş plastisiteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla alttür *sibthorpii*'nin ekolojik toleransının ve rekabetinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışma sonuçları göz önünde bulundurularak fenotipik plastisitenin alttürler arasında bile değişiklik gösterebildiği belirtilmiştir (Hatır-Türken, 2003).

Doğada *P. vulgaris*'in *Primula* L. cinsinin diğer türleriyle ve ayrıca kendi iki alttürü arasında olan doğal hibritlerine de sıkça rastlanmaktadır. Türün hibritleriyle ilgili pek çok

çalışmaya da rastlanmıştır. Örneğin *P. × uzungolensis* Terzioğlu & Coşkunçelebi, Kuzey Anadolu'dan tanımlanan doğal yeni bir hibrittir. Morfolojik ve moleküler karakterlerine dayalı olarak *P. × uzungolensis*' in *P. acaulis* (L.) Hill subsp. *rubra* (Sm.) Greuter & Burdet ve *P. veris* L. subsp. *columnae* (Ten.) Maire & Petitmengin arasında yeni bir doğal hibrit olduğu sonucuna varılmıştır (Terzioğlu vd., 2012).

Bunun dışında *P. vulgaris* ve *P. elatior* (Valentine, 1947) ve *P. vulgaris* ve *P. veris* (Valentine, 1955) arasındaki hibridizasyon ve hibrit formlarının meyve ve tohum üretimi, embriyo ve tohum gelişimi, hibrit formların üretkenliği gibi parametreleri araştırılmıştır.

Başka bir çalışmada yine *P. vulgaris* x *P. veris* hibritlerinin bulunduğu bir bölgede çiçek değişimleri araştırılmış ve floral organların farklılığı istatistiksel olarak test edilmiştir (Kálmán vd., 2004).

Diğer bir çalışmada normal tohumlar ve *P. vulgaris* ve *P. veris*' in resiprokal çaprazlanmasından elde edilen tohumların gelişimi karşılaştırılmıştır (Woodell, 1960). Clifford (1958) ise *P. vulgaris* ve *P. veris* arasındaki gen akışı araştırmıştır.

2000 yılında yapılan bir çalışmada, ITS ve cpDNA (kloroplast DNA'sı) dizin analizi sonuçları ile *Primula* cinsindeki filogeninin yeniden oluşturulması ve ortaya konulacak bu filogeninin üreme sistemi, morfolojik karakterler, kromozom sayısı ve biyocoğrafik dağılışı arasındaki değişimsel ilişkilerin açıklanmasında kullanılması amaçlanmıştır. Bu hedefe yönelik olarak *Primula*' nın 21 taksonu üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, seksiyonlar arasındaki ITS baz dizisi varyasyonunun akrabalıkların çözümünde etkili çok sayıda bilgilendirici veri sunduğu görülmüştür (Conti vd., 2000).

Sonuçta daha fazla takson örnekleme ve baz dizin analizi için diğer nrDNA bölgelerinden örneğin ETS (External Transcribed Spacer) bölgesi (Baldwin ve Markos, 1998) ve kloroplast DNA bölgelerinden örneğin Maturase K (*matK*) geni (Sang vd., 1997) ve IGS (Intergenic Spacer) (Taberlet vd., 1991) çoğu poliploidi ve homositus taksonlar için hibrit orijinlerinin sorunlarını açıklamaya yardımcı olacak, aynı zamanda cinsin her iki atasal ve anasal filogenisini detaylı olarak ortaya koyacaktır. Çünkü filogenetiğin doğruluğu, hem incelenen takson hem de kullanılan karakter sayısına bağlıdır (Graybeal, 1998; Bremer vd., 1999). Birkaç DNA bölgesi ve farklı seksiyonlara ait kısmen detaylı örnekleme ve sonuçta cinsin tamamını kapsayan bir çalışma, *Primula*' daki çeşitliliğinin açıklanmasına katkı sağlayacaktır. Bu detaylar, *Primula* L. cinsinde, yetiştirme sistemleri ve çoklu seviyede allopatrik değişimi açıklamak için önemli olacaktır (Conti vd., 2000).

Şimdiye kadar klasik yöntemlerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar *Primula* cinsin sistematik problemlerini çözmede önemli katkılar sağlamasına rağmen cinsin temel filogenetik yapısını ortaya çıkartmak için nrDNA üzerinde gerçekleştirilen ITS-PCR çalışmalarının çok kullanışlı olduğu Conti vd. (2000)' nin yaptığı çalışmada belirtilmiştir.

Uzuner (2006) Kuzey Anadolu Doğal *Primula* taksonlarının nrDNA ITS bölgeleri bakımından incelemiş ve morfolojik özellikleri arasındaki ilişkileri ortaya koymuştur. Çalışmada kullanılan 9 farklı *Primula* taksonundan ikisini *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* oluşturmaktadır. ITS dizin analizleri sonucunda elde edilen Maksimum Parsimoni ağacında *P. vulgaris* türünün farklı lokaliteden alınmış 6 populasyon örneği, kendi aralarında bir grup oluşturmasına rağmen, alttür populasyonları arasında beklenen yakınlık ilişkisi tam olarak gözlenememiştir. Morfolojik verilerin UPGAMA ile analizi sonucu elde edilen fenogramda *P. vulgaris*'i temsil eden bütün populasyonlar, tek bir grup altında toplandığı görülmüş; ancak alttür seviyesinde, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* populasyonlarının bir grup oluşturması beklenirken aynı bölgeden toplandıkları *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* populasyonları ile daha yakın benzerlik gösterdikleri görülmüştür. Bu durumda *P. vulgaris*' in morfolojik olarak diğer türlerden çok daha kolay ayrılabilirdiği, ancak alttür düzeyinde morfolojik karakterlerin bazı örnekleri gruplandırmada tam olarak yeterli olmadığı görülmüştür.

Benzer şekilde Gültepe vd. (2010) Türkiye' deki tüm *Primula* cinsine ait taksonların nrDNA ITS polimorfizmini incelemiş ve sistematik bakımdan tür düzeyinde ayırt edici olduğu sonucuna varmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucuna göre *P. vulgaris*' in alttürlerinin ITS bölgeleri bakımından alttür ayırımından ziyade coğrafik dağılım eğilimi gösterdikleri bulunmuştur. Gültepe vd. (2010)' ye göre bu durum coğrafik olarak yakın olan iki populasyonun ITS bölgelerinin daha yüksek oranda benzerlik gösterebileceği (Wardill vd., 2005) ve alttürler içindeki genetik farklılıkların bölgesel iklim tarafından etkilenebileceği (Noyes, 2006) görüşü ile açıklanmıştır.

Zhang ve Kadereit (2004) *Primula* sect. *Auricula*' yı ITS ve AFLP' ye göre sınıflandırmıştır. Martins vd. (2003) Primulaceae s.l.' nin ITS' e dayalı olarak filogenetik analizini çalışmıştır.

Yapılan literatür taramalarında *Primula* cinsine ait bazı taksonların ITS bölgeleri bakımından incelendiği çalışmaların bulunduğu görülmüş; fakat şimdiye kadar *P. vulgaris* Huds. taksonunun iki alttürüne ait çok sayıda populasyonla yapılan ITS polimorfizmi çalışmasına rastlanılmamıştır.

Yüksek bitkilerdeki yağ asit içeriği ve kompozisyonu kemotaksonomik karakter olarak kullanılmaktadır (Spitzer vd., 1990; Aitzetmuller, 1993; Aitzetmuller ve Tesevegsuren, 1994; Bağcı vd., 2003). Tohumların uzun zincirli yağ asidi içeriğinin fazla oluşu, endüstriyel amaçlar için kullanımlarına dikkat çekmiştir (Baumann vd., 1988). Bünyelerindeki yağ asidi içeriği bitkiler arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde ilgilenilen bitki için karakteristik bilgi sunmaktadır (Goffman vd., 1999; Bağcı vd., 2004).

P. vialii Franchet ve *P. farinosa* L. taksonlarının yağ asidi içerikleri (Sayanova vd., 2003) ve ayrıca *P. macrocalyx* türünde yağ asidi kompozisyonu (Kosenkova vd., 2008) çalışılmıştır; fakat *P. vulgaris* taksonunun iki alt türünün yağ asidi profillerinin karşılaştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

P. vulgaris Huds. türünün iki taksonu arasındaki renk polimorfizminin nedenini araştıran Shipunov vd. (2011) çalışmalarında taksonlara ait toprak pH' larını karşılaştırmıştır; fakat pH değerlerinin renk özellikleriyle ilişkili olmadığı bulunmuştur (Shipunov vd., 2011).

Yine *P. vulgaris*' in iki alt türün Samsun ilinde yetişen popülasyonlarıyla yapılan bir çalışmada toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri bu iki alttürün fenotipik plastisitelerinin karşılaştırılmasında ayırt edici bir parametre olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucuna göre *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*'e oranla pH ve topraktaki kireç açısından daha geniş bir toleransa sahip olduğu, her iki alttüründe yayılış gösterdiği toprakların N ve organik madde yönünden zengin, K yönünden fakir ve killi topraklar olduğu tespit edilmiştir (Hatır-Türken, 2003).

Belçika'da yapılan başka bir çalışmada yine *P. vulgaris* popülasyonlarının genetiği, nüfus ve popülasyon sürekliliği üzerine tarımsal arazi kullanımı ve parçalanmasının etkisi araştırılmıştır. Bunun için genetik ve ekolojik özellikleri çalışılmıştır. 62 popülasyondan 5 toprak örneği analiz edilmiştir. Toprak pH değerleri belirlenmiş, içerilen K, Mg, Ca ve Na elementlerinin miktarı, P ve N içerikleri tespit edilmiş, Organik Madde tayini ve tekstür analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda türün popülasyonlarının arazi değişikliğine ve parçalanmaya toleransının düşük olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak alınan toprak örneklerinin tekstürünün killi, kumlu ve balçıklı olmak üzere çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir. pH değerleri ise 4-7,5 arasında ölçülmüştür (Jacquemyn vd., 2003).

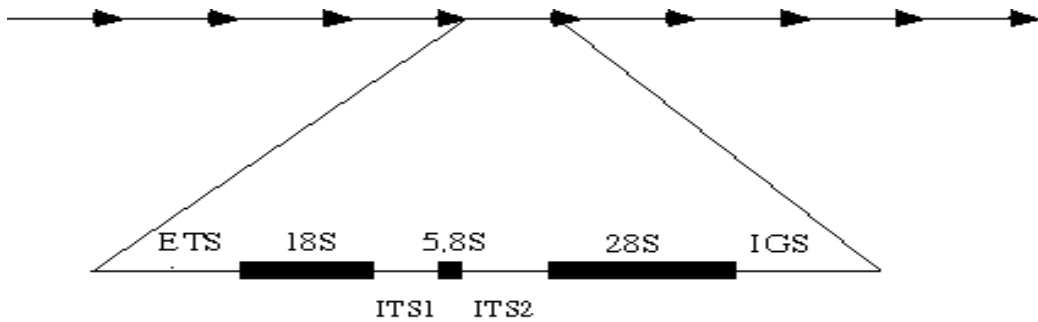
1.3. ITS (Internal Transcribed Spacers)

Bazı durumlarda bitki gruplarını doğal ortamlarında tanımlamada ve bir cinsin taksonlarını ayırt etmede zorluklarla karşılaşılabilir. Genellikle kullanılan anahtar morfolojik karakterler ya tam ayırt edici olmamakta ya da gözlem anında belirgin bir durumda bulunmamaktadır. Özellikle kültürü yapılan türlerle, yaban tiplerin akrabalıklarının ortaya konmasında, türlerin teşhisi, toplanması ve korunması sırasında tanımlama büyük önem taşımaktadır (Baldwin vd., 1990).

Bitki germ plazması koleksiyonlarında tutulan materyallerin çoğunun yanlış isimle isimlendirildiği anlaşılmıştır (Baldwin vd., 1995). Örneğin pancar ve pirinç koleksiyonlarındaki türlerin tanımlanmasında aşırı karışıklıklar rapor edilmiştir. Yapılan incelemeler, tür ya da alt türlere ait birçok grubun geleneksel metotlar kullanılarak yanlış tanımlanmış olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle, taksonlarla ilgili yapılacak tüm bilimsel araştırmalar için öncelikle gerçekleştirilmesi gereken çalışma tam ve doğru teşhistir (Baldwin vd., 1995).

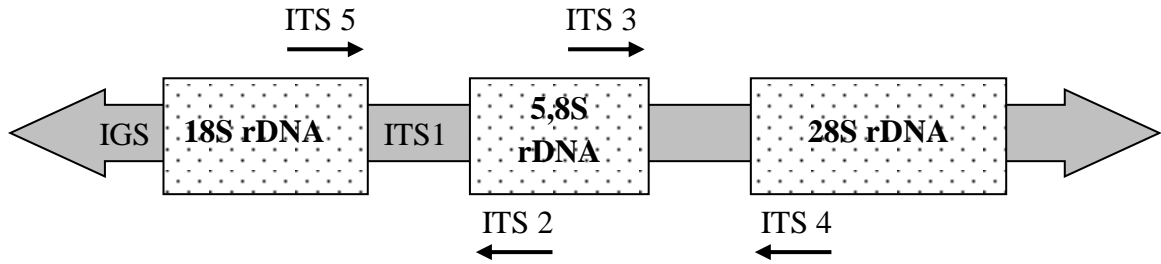
Moleküler biyolojideki son gelişmeler, türe özgü gen bölgelerinin belirlenmesiyle bitki türlerinin tanımlanmasına imkan vermektedir. Buna yönelik olarak, rDNA'nın ITS bölgeleri, bitkilerdeki moleküler sistematik çalışmalarda sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri haline gelmiştir (Baldwin vd., 1995).

Genomik DNA üzerindeki rDNA bölgeleri, çoklu gen yapılarından oluşur ve ardışık sıralanmış tekrarlı diziler şeklindedir. Şekil 2'de, bu bölgelerin genel yapısı ve genomik DNA üzerindeki yerleşimleri basit olarak şematize edilmiştir.



Şekil 2. ITS bölgelerinin genomik DNA üzerindeki yerleşimi

rDNA tekrarları; genomik DNA'nın NOR (Nükleolar Organizer Region) bölgelerinde yerleşmiş durumdadır ve 18S küçük alt birim (Small Subunit), 5,8S ve 28S büyük alt birim (Large Subunit) rDNA'ları kodlayan genlerden oluşmaktadır. ITS bölgeleri, genomik DNA üzerindeki bu rDNA tekrarları içinde yerleşmiştir. Bu bölgeler, rDNA'nın alt birimleri ile transkribe edilmektedir ve korunmuş bölgeleri (18S, 5,8S ve 28S) birbirinden ayıran iki kısımdan (ITS1 ve ITS2) oluşmaktadır (Baldwin vd., 1995). Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine bağlanabilen evrensel primerler kullanılarak PCR çalışmalarıyla kolayca elde edilebilir. Bu amaçla kullanılan evrensel ITS (ITS2, ITS3, ITS4 ve ITS5) primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri, Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. ITS primerlerinin rDNA bölgesi üzerindeki bağlanma yerleri

rDNA genleri, kopya edilmeyen bölgeler (IGS) ve ITS bölgelerinin varlığıyla birbirinden ayrılmıştır. IGS bölgeleri (ETS ve NTS), komşu rDNA tekrar birimleri arasında yer almaktadır. ETS, ribozomal mRNA ile kodlanan dış kopya bölgesidir ve onun promotor bölgesini ihtiva etmektedir. NTS (Non Transcribed Spacer) ise, tekrar birimleri arasında yerleşmiş kodlanmayan bölgelerdir (Baldwin vd., 1995). ITS1, 18S (SSU) ile 5,8S arasında yerleşmiştir. ITS2 bölgesi ise, 5,8S ile 28S (LSU) genlerini ayıran DNA bölgesidir. Bu gen yapılarını ihtiva eden rDNA tekrarlarının ökaryotik organizmalardaki kopya sayısı, 200-30.000 arasında değişiklik göstermektedir. Bu, bütün genomun yaklaşık % 1 veya daha fazlasını temsil etmektedir. Ayrıca genomik DNA'nın rDNA kopya sayısında ara sıra değişiklikler meydana gelebilmektedir.

1.3.1. ITS' nin Genel Özellikleri

Ökaryotik organizmalarda 5,8S gen bölgesi, çoğunlukla ITS bölgeleri ile birlikte değerlendirilir. Bütün bölgenin toplam uzunluğu yaklaşık 700 bp kadardır. Bu bölgelerin korunmuş rDNA gen bölgelerine göre daha fazla değişkenlik gösterdiği kanıtlanmıştır.

ITS1 ve ITS2 bölgelerinin filogenetik açıdan sundukları veriler farklı düzeydedir. Bu bölgelere dayalı analizlerde ITS1 verileri, daha fazla filogenetik çözümler sunmaktadır ve nükleotid içeriği ITS2'ye göre % 29 daha değişkendir. Bu bölgeler, rDNA' nın olgun 18S, 5,8S ve 28S alt birimlerinin oluşumu sürecinde görev almaktadır (Baldwin vd., 1995).

1970'lerde DNA dizin analizi çalışmalarının hız kazanmasıyla, rRNA'lar ve komşu bölgeleri üzerindeki sekonder yapı çalışmaları büyük artış göstermiştir. Her tekrar birimi, olgun rRNA'ları oluşturacak olan bir prekürsör (preRNA) olarak kopya edilir (Baldwin, 1992).

ITS1 ve ITS2 bölgeleri ribozomal transkripsiyon ürününün bir parçası olmasına rağmen olgun ribozomal alt birimlerin yapısına dahil edilmezler. Ancak bu bölgeler, rRNA'ların olgunlaşması sürecine katkıda bulunmaktadır (Baldwin, 1992).

preRNA molekülünün çeşitli olgun RNA türlerine dönüşümünü sağlayan transkripsiyon sonrası süreçte her iki ITS bölgesi kesilip çıkarılır ve ortamdan uzaklaştırılır. ITS bölgelerinin, baz değişimi sınırlamalarından nispeten uzak olduğuna inanılmaktadır. Bu durum Insekta'lardan ve Angiosperm'lerden elde edilen ITS bölgelerine dayalı filogenetik analiz sonuçları ile desteklenmektedir (Baldwin, 1999).

ITS1'de meydana gelebilecek delesyon-insersiyon olayları veya nokta mutasyonları, olgun SSU ve LSU rDNA'ların üretimine engel olabilmektedir. ITS2 bölgesinde oluşabilecek bu çeşit mutasyonlar sonucunda da büyük alt birim rRNA'ların oluşumu zarar görebilmektedir. ITS bölgesinin primer yapısında bu çeşit değişiklikler meydana gelmesine rağmen sekonder yapıları ileri derecede korunmuştur. Özellikle ITS1 bölgesinin merkezine yakın kısımlarında değişmeden kalabilen korunmuş bölgelerin varlığı tespit edilmiştir (Baldwin, 1999).

1.3.2. ITS' nin Taksonomide Tercih Edilme Nedenleri

rDNA gen bölgelerinde bulunan bu ITS bölgeleri, moleküler ve sistematik açıdan sahip oldukları ayırt edici özellikler nedeniyle filogenetik analiz çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu bölgeler;

- Filogenetiğin yeniden inşasında yeterli veri sunacak kadar uygun bir büyüklüğe sahiptir (600-700bp).
- Cins ve tür içi seviyelerde ileri derecede korunmuş olan rDNA gen bölgelerine komşu olarak bulunmaktadırlar.
- PCR ile çoğaltılarak karşılaştırılmaları için büyüklüğü son derece elverişlidir.
- rDNA gen bölgelerine göre daha hızlı nükleotit baz değişimi gösterirler.
- Cins ve tür seviyesindeki filogenetik çalışmalarda DNA içerikleri, açıklayıcı bilgiler sunmaktadır.
- Genomik DNA üzerinde yüksek kopya sayısına sahiptirler.

Bu bölgelerin evrenselliği, alt birim unsurları ve bölgeler arasındaki farklı baz varyasyon oranları nedeniyle, sistematikte kullanılmaları yaygınlaşmıştır.

1.3.3. Taksonomik Seviyelerde Kullanımı

İki kopya bölgesi (ITS1 ve ITS2), yakın akraba olan taksonların karşılaştırılmasındaki kullanışlılığı nedeniyle, daha 1990'lı yıllarda hızlı bir şekilde çalışılmaya başlanmıştır. Mevcut veriler, ITS baz dizilerinin, Angiosperm'lerde değişik seviyelerde filogenetik açıdan kullanışlı olduğunu göstermektedir. Bu veriler, genetik sürüklenmelere yönelik etkili sinyaller ortaya koymaktadır (Baldwin vd., 1992).

Bazı bitki gruplarında ITS1 ve ITS2'de yüksek oranda varyasyonla karşılaşıırken, bazılarında ise, nükleotit varyasyonunun az bir dizisine rastlanılmaktadır. Aynı toplam DNA değerlendirmelerinde; çoğu grupta ITS dizilerinin, cpDNA baz dizilerinden çok daha fazla değişkenlik gösterdiği ve daha bilgilendirici olduğu sonucuna varılmıştır (Baldwin vd., 1999).

ITS bölgelerinin, hibrit taksonlara yönelik filogenetik analizlerde kullanılması uygun görülmemektedir. Çünkü hibritlerden elde edilecek ITS bölgelerinin hangi atasal

genomdan çoğaltıldığıının bilinmemesi, güvenilir olmayan değerlendirmelere neden olacaktır (Baldwin vd., 1995).

rDNA tekrarlarının yüksek kopya sayısı nedeniyle (hücre başına 30.000'e kadar), ona göre küçük ebatta olan ITS bölgelerini PCR ile çoğaltmak oldukça kolaydır. Bu durum ITS bölgelerini filogenetik ve biyocoğrafik araştırmalar için ilgi çekici bir hale getirmektedir (Baldwin vd., 1992).

Türlere ait ITS baz dizinleri, allopatrik veya ayrı populasyonlar arasındaki akrabalıkların araştırılması için yararlı deliller sunmaktadır. Örneğin *Calycadenia*'daki allopatrik türlerin bireyleri arasında ITS dizinindeki baz değişimi % 3,7'ye kadar değişiklik gösterirken; *Madiinae* türlerinde ise ITS1 dizin varyasyonu % 21,7 olarak bulunmuştur. Bu varyasyonların belirli sistematik seviyelerde ve alttürler arasında akrabalıkları çözmede bilgilendirici olduğu sonucuna da ulaşılmıştır. Bazı eski bitki gruplarında ise, ITS varyasyonunun düşük seviyelerde olduğu görülmüştür (Baldwin vd., 1992). Başka bir çalışmada *Hieracium* L. (Asteraceae) taksonuna ait 47 populasyon örneği, nrDNA ITS bölgeleri açısından araştırılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen ITS baz sıraları populasyonlar arası akrabalık ilişkilerini göstermek için kullanılmıştır (Gültepe, 2007).

1.4. Yağ Asitleri ve Sistematikte Kullanımı

Yağ asitleri düz zincirli, çift karbon sayılı mono-karboksilik asitlerdir. Doğal katı ve sıvı yağlarda esterler halinde bulunurlar. Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genelde düz zincir türevleridir ve iki karbonlu birimlerden sentez oldukları için çift sayıda karbon atomları içerirler (Murray vd., 1990). Yağ asitleri organizmada hücresel yapı elemanı olarak kompleks lipitler halinde, az bir kısmı da hücre ve dokularda serbest yağ asidi halinde bulunmaktadır. Hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda 100'den fazla çeşit yağ asidi izole edilmiştir. Bütün yağ asitleri, bir ucunda metil grubu bulunduran uzun bir hidrokarbon zinciri, diğer uca ise karboksil grubu bulundururlar (Dinç, 2001).

Yüksek bitkilerdeki yağ asidi içeriği ve kompozisyonu kemotaksonomik markır vazifesi görür (Spitzer vd., 1990; Aitzetmuller, 1993; Aitzetmuller ve Tesevegsuren, 1994; Bağcı vd., 2003). Tohumların uzun zincirli yağ asidi içeriğinin fazla oluşu, endüstriyel amaçlar için kullanımlarına dikkat çekmiştir (Baumann vd., 1988). Bünyelerindeki yağ asidi içeriği bitkiler arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde ilgilenilen bitki için karakteristik bilgi sunmaktadır (Goffman vd., 1999; Bağcı vd., 2004).

Yağ asitlerinin taksonomik marker olarak kullanılma sebepleri:

- İçerdikleri karbon atomu sayısı,
- Karbon atomları arasındaki çift bağ sayısı ve yeri,
- Tek zincirli ya da dallanmış zincir oluşturmaları,
- Karbonların hidrojen atomları tarafından doyurulmuş olup olmamaları,
- Ökaryotik hücrelerde genellikle çift karbon sayısı (C14-C24), prokaryotik hücrelerde tek ve çift sayılı karbon (C9-C20) bulunuşudur.

Peisley (1995)'e göre genetik olarak aynı olan organizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve % olarak miktarları (yağ asitleri profilleri) aynıdır ve çevre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yani yağ asitleri profillerindeki farklılıklar organizmalar arasındaki kimyasal ve genetik akrabalığın bir göstergesidir (Aygün, 2006).

Aitzetmuller ve Tsevegsüren (1994) yapmış oldukları çalışmada kemotaksonomik bakımdan önemli olan yağ asitlerinin varlığının veya yokluğunun, bitki tür ve cinsleri arasındaki benzerliğin seviyesini ortaya koymada, önemli ipuçları sağladığını bildirmişlerdir.

Leguminosae gibi birçok familyada yağ asidi içeriği kemotaksonomik olarak kullanılmaktadır. Bağcı vd. (2004)' nin, Leguminosae familyasının farklı cinslerine ait yağ asidi içeriğinin karşılaştırılmasına yönelik yaptıkları çalışmalar da esas olarak oleik, linoleik ve linolenik asitleri içerdiklerini ve bu yağ asitlerinin türler arasında oldukça değişkenlik gösterdiklerini desteklemektedir.

Lathyrus cinsine ait bir araştırmada yağ asitlerindeki benzerliğin yüksek olması nedeniyle yağ asitlerinin kemotaksonomik markır olarak kullanılabilceği ve miktarlarının ilgilenilen cinsler arasındaki yakın/uzak akrabalık ilişkisinin bir göstergesi olabileceği açıklanmıştır (Bağcı vd., 2004).

Leguminosae familyası üyeleri yüksek protein içerikleri kadar yüksek yağ içerikleri de dikkat çekmiş ve bu nedenle yağ asidi içerikleri geniş çapta incelenmiştir (Smouse ve Chang, 1967; Howells vd., 1972; Grela ve Gunter, 1995). *Vicia* cinsinin farklı türlerinde yağ asidi ve toplam lipit içeriği üzerine yapılan bir araştırmada, türlerdeki lipit içeriğinin % 2,30-3,91 arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca türlerin başlıca doymuş yağ asitlerinden stearik ve palmitik asit, doymamış yağ asitlerinden de oleik, linoleik ve linolenik asitleri daha fazla bulundurdıkları gözlenmiştir (Akpınar vd., 2001). Yine, *Astragalus* türleri

arasındaki varyasyonu belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada FAME's (Yağ Asiti Metil Esterleri) profillerinden yararlanılmıştır (Adıgüzel vd., 2006).

Erzurum ilinde yapılan bir tez çalışmada *Vicia canescens* subsp. *variegata*'ya ait popülasyonları arasındaki biyokimyasal ve genetik varyasyon FAME's ve RAPD teknikleri ile araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda biyokimyasal değerlendirmelerin genotipik sonuçlarla uyum göstermediği gözlenirken, sonuçlar popülasyonlar arası varyasyonun popülasyonlar içerisindeki varyasyondan daha fazla olduğunu göstermiş ve bu durum gen akışı ve genetik sürüklenme ile açıklanmıştır (Aygün, 2006).

Yapılan başka bir tez çalışmada Tunceli, Malatya ve Elazığ olmak üzere üç farklı bölgeden alınan yabancı aspir (*Carthamus persicus* Wild) bitkisinin çiçekten tohumla doğru gelişim periyodu takip edilerek yağ asidi bileşimindeki değişiklikler incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu içerilen yağ asidi türü ve miktarının bölgeden bölgeye farklılık gösterdiği; fakat her üç toplama bölgesinden alınan tohum örneklerinde linoleik asidin başlıca yağ asidi olma özelliğini koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada pelargonik, laurik, miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik, linolenik, araşidik ve behenik asitlerin miktarları da çiçek ve tohumda ayrı ayrı olmak üzere bakılmıştır (Aşkın, 2008).

Yapılan çalışmalarda kullanılan yağ asitleri daha çok oleik, linoleik, linolenik gibi doymamış; palmitik, stearik, miristik asitler gibi önemli doymuş yağ asitleri üzerine yoğunlaşmaktadır.

Bunlar dışında; bazı Malvaceae türlerinde yağ asidi içeriklerindeki farklılığın türlerin taksonomisinde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Oliveira da Silva vd., 2010). *Coniferae* familyasından bazı türlerin tohumlarındaki yağ asidi profilleri (Wolff vd., 1997), bazı *Gymnospermae* türlerinin (Mongrand vd., 2001) ve *Rubiaceae* familyasındaki bazı türlerin (Mongrand vd., 2005) yapraklarındaki yağ asitleri, bu türlerin kemotaksonomisinde kullanılmıştır.

1.5. Toprak Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı

Ekolojik özellikler bitki çimlenmesi, gelişimi ve hayat evresini tamamlaması açısından oldukça önemli karakterlerdir. Bitkiler; iklim, su ve toprak elementlerinin etkileri sonucu çimlenir, gelişir ve hayat evrelerini tamamlarlar. Sayılan bu faktörler arasında yer

alan toprak, içermiş olduğu makro ve mikro besin elementleri bakımından bitki gelişiminde oldukça büyük önem arz etmektedir.

Toprak başlıca sekonder ve primer mineraller (%46), su (%25), hava (%25) ve organik maddelerden (%4) meydana gelmektedir (Kabata ve Pendias, 2001). Toprağı oluşturan bu maddeler oransal olarak büyük değişiklikler göstermektedir. Bu değişikliğe bağlı olarak da toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde farklılaşmalar ortaya çıkar (Gökmen, 2007; Kabata ve Pendias, 2001).

Toprakta bulunan besin elementleri o bölgede yaşayan bitki türlerini etkilemektedir. Toprak içerisinde bulunan irili ufaklı parçaların miktarı toprak tekstürünü oluşturmaktadır ve toprak tekstürü de üzerinde yetişen bitkinin gelişimini oldukça önemli bir derecede etkilemektedir. Toprağın sahip olduğu asitlik ya da alkalilik derecesine toprak reaksiyonu adı verilmektedir. Toprak pH' sının en önemli etkisi bitki besin elementlerinin elverişliliği üzerinde görülmektedir (Gökmen, 2007). Toprağın içermiş olduğu besin elementleri o bölgede yetişen bitki türlerini etkilemektedir. Örneğin verimsiz topraklarda erkek bireyler, verimli topraklarda ise dişi bireyler daha fazla bulunmaktadır. Bitkilerin mineral madde içerikleri, bitkinin değişik gelişim evrelerinde ve iklim koşullarında farklılık göstermektedir. Kurak bölgelerde yetişen bitkilerin kül oranı, yağışlı bölgelerde yetişen bitkilere göre %25 daha fazladır (Kacar ve Katkat, 2006).

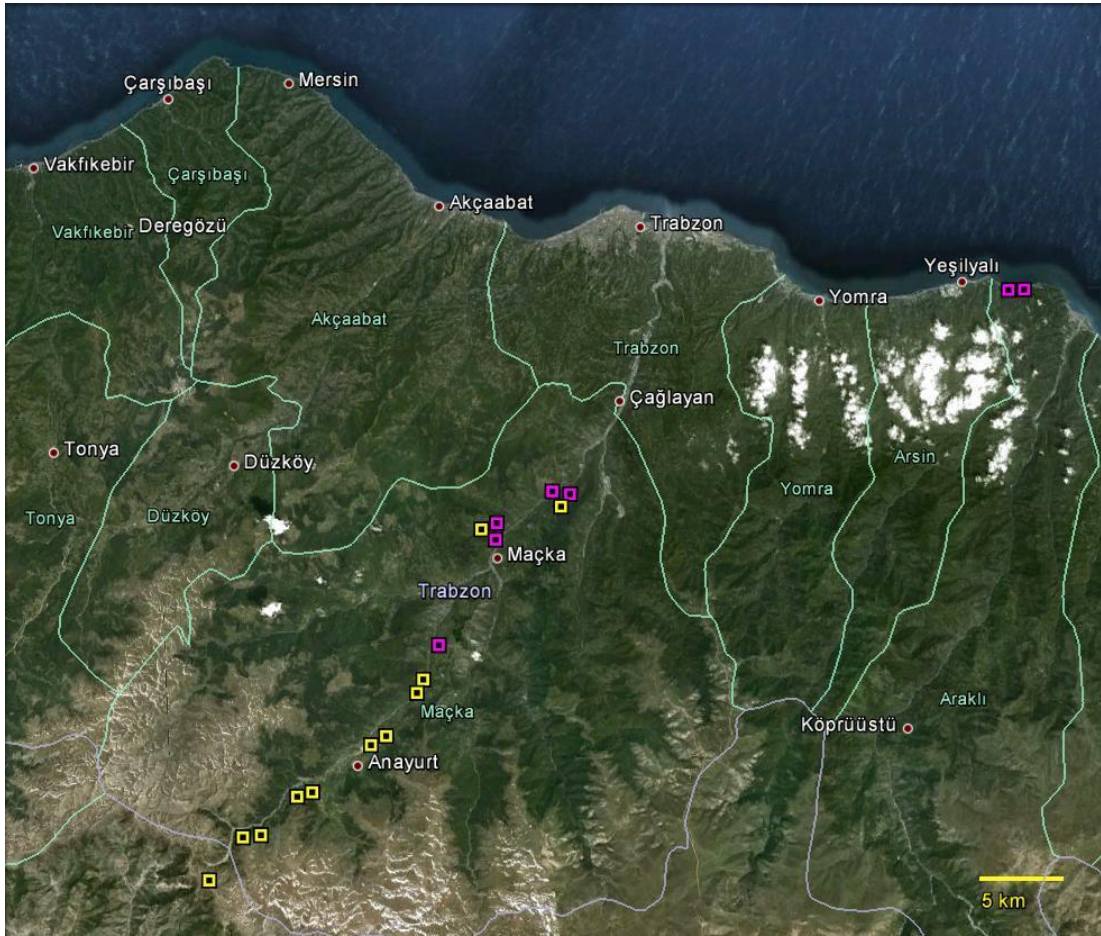
Bitki türleri büyüyüp gelişebilmek ve yayılmak için bazen çok özel toprak ve habitat koşullarına ihtiyaç gösterebilir. Bu durum bazı bitki türlerinin tanımlanmasında kolaylık ve ya yardımcı bir karakter olarak kullanılabilir. Pek çok sistematik çalışmada bitkinin ayırt edici özellikleri araştırılırken, üzerinde bulunduğu toprağın birtakım özellikleri de kullanılmaktadır. Örneğin; *T. gumusanica* ve *T. armena* var. *armena* taksonlarının benzerlik ve farklılıklarını tespit etmek için yapılan bir çalışmada, ekolojik karakterlerden biri olan toprak taksonomik bir karakter olarak kullanılmıştır (Coşkunçelebi vd., 2008).

Dumlupınar Üniversitesi'nde yapılan bir tez çalışmada Kütahya ve Eskişehir'de endemik olarak yayılış gösteren altı *Stachys* taksonu (*S. annua* subsp. *cilicia*, *S. setifera* subsp. *lycia*, *S. sosnowskyi*, *S. tmolea*, *S. cretica* subsp. *anatolica*, *S. setifera* subsp. *iberica* var. *densipilosa*) anatomik ekolojik olarak incelenmiştir. Toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri, türlerin karşılaştırılmasında taksonomik bir karakter olarak kullanılmış ve türlerin yetiştiği ortamlarda toprak özellikleri açısından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Leblebici, 2011).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyalin Temini ve Saklanması

Çalışmada kullanılan bitki materyali, 2011 yılı Şubat - Haziran aylarında yapılan arazi çalışmaları ile toplanmıştır. Toplanan örneklerle ilgili arazi çalışmaları Trabzon ili Değirmendere Vadisi - Zigana istikametinde daha önceden belirlenmiş farklı yüksekliklerden olmak üzere 8 noktada ve belirlenen güzergahta deniz seviyesinde örnek temini yapılamadığından Araklı ilçesinden yalnızca 1 noktada olmak üzere toplamda 9 noktada gerçekleştirilmiştir. Örneklerin toplandığı noktaların çalışma alanı üzerindeki dağılımı Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Örneklerin toplandığı noktalar ■ - *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*, ■ - *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*

Çalışmalar sırasında toplanan örneklerde, olgun bir bitkiye ait bitki kısımlarının bulunmasına dikkat edilmiştir. Örnekler toplanırken, kurduğunda değişebilecek fakat teşhis için önemli olan özellikler ayrıca kaydedilmiştir. Numaralandırılmış örnekler laboratuvarında presler içerisinde sıkıştırılarak kurutulmuş ve herbaryum örneği haline getirilmiştir. Herbaryum örneği halindeki örnekler, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda (KTUB) saklanmaktadır. Arazi çalışması sırasında toplanan her örneğe numara verilmiş ve o örnekle ilgili toplama bilgileri kaydedilmiştir. Araştırmada kullanılan tüm bitki materyallerinin toplama bilgileri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo1. Çalışmada kullanılan bitkilere ait toplama bilgileri

Populasyon No	Takson adı	Toplandığı Yer
1	<i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>sibthorpii</i> (Hoffmanns.) W. W. Sm. & Forrest Eşad: <i>P. sibthorpii</i> Hoffmanns.; <i>P. acaulis</i> var. <i>rubra</i> Sibth. & Sm.; <i>P. acaulis</i> var. <i>rosea</i> Boiss.; <i>P. vulgaris</i> var. <i>rubra</i> (Sibth. & Sm.)	A7 Trabzon: Araklı, Yalıboyu, anayol üstü findık bahçesi, 8 m, 07 iv 2011, PV34, KTUB
2		A7 Trabzon: Araklı, Yalıboyu, anayol üstü findık bahçesi, 8 m, 07 iv 2011, PV36, KTUB
3		A7 Trabzon: Esiroğlu, Gayretli Köyü, dere üstü findık bahçesi, 211 m, 20 ii 2011, PV23, KTUB
4		A7 Trabzon: Esiroğlu, Gayretli Köyü, dere üstü findık bahçesi, 211 m, 20 ii 2011, PV24, KTUB
5		A7 Trabzon: Maçka, Örnekalan Köyü, findık bahçesi, 404 m, 10 iv 2011, PV39, KTUB
6		A7 Trabzon: Maçka, Örnekalan Köyü, findık bahçesi, 404 m, 10 iv 2011, PV40, KTUB
7		A7 Trabzon: Maçka, Köprüyanı Köyü, findık bahçesi, 685 m, 10 iv 2011, PV42, KTUB
8	<i>P. vulgaris</i> Huds. subsp. <i>vulgaris</i> Eşad: <i>P. veris</i> L. var. <i>acaulis</i> L., <i>P. acaulis</i> (L.) Hill, <i>P. vulgaris</i> var. <i>calva</i> Beauverd	A7 Trabzon: Esiroğlu, Gayretli Köyü, dere üstü findık bahçesi, 211 m, 20 ii 2011, PV25, KTUB
9		A7 Trabzon: Maçka, Örnekalan Köyü, findık bahçesi, 404 m, 10 iv 2011, PV41, KTUB
10		A7 Trabzon: Maçka, Zigana yolu, dere kenarı findık bahçesi, 600 m, 13 iii 2011, PV28, KTUB
11		A7 Trabzon: Maçka, Zigana yolu, dere kenarı findık bahçesi, 600 m, 13 iii 2011, PV29, KTUB
12		A7 Trabzon: Maçka, Gürgenağaç Köyü yakını, yol kenarı açık yamaç, 923 m, 10 iv 2011, PV43, KTUB
13		A7 Trabzon: Maçka, Gürgenağaç Köyü yakını, yol kenarı açık yamaç, 923 m, 10 iv 2011, PV44, KTUB
14		A7 Trabzon: Maçka, Hamsiköy çıkışı, yol kenarı açık yamaç, 1300 m, 29 iv 2011, PV46, KTUB
15		A7 Trabzon: Maçka, Hamsiköy çıkışı, yol kenarı açık yamaç, 1300 m, 29 iv 2011, PV48, KTUB
16		A7 Trabzon: Maçka, Hamsiköy, Zitaş Tatil Köyü üstü, açık yamaç, 1686 m, 29 iv 2011, PV49, KTUB
17		A7 Trabzon: Maçka, Hamsiköy, Zitaş Tatil Köyü üstü, açık yamaç, 1686 m, 29 iv 2011, PV50, KTUB
18		A7 Gümüşhane: Zigana, Gümüşkayak tesisı yukarısı, Kadırğa Yaylası yolu üzeri, taşlık açık yamaç, 2120 m, 14 v 2011, PV53, KTUB

2.2. Morfolojik Çalışmalar

Toplanan örneklerin morfolojik incelemeleri herbaryum materyalleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bunun için önce tür teşhisinde ve alttür ayırımında rol oynayan karakterler belirlenmiştir. Bitkilerin teşhisinde, başta Türkiye Florası (Lamond, 1978) olmak üzere, Avrupa Florası (Valentine ve Kress, 1972) ve Rus Florası (Fedorov, 1967)'ndan da yararlanılmıştır. Yapılan morfolojik incelemelerle elde edilen ayırt edici karakterler Tablo 2' de verilmiştir. Bu ayırt edici karakterler belirlenmeden önce her bir örnek üzerinde 6-10 ölçüm gerçekleştirilmiştir. Teşhislerde faydalanılan morfolojik karakterler, Stereo-binoküler mikroskop altında yapılan incelemelerle tespit edilmiştir.

Tablo 2. Fenetik analizde kullanılan morfolojik karakterler

Değişkenler	Karakterin Adı	Birimi
X ₁	Bitkinin boyu	cm
X ₂	Yaprak boyu	cm
X ₃	Yaprak eni	cm
X ₄	Yaprak alt yüzeyinin tüy durumu	Orta damar dahil tüylü:0 Yalnızca orta damar tüylü: 1
X ₅	Brakte boyu	cm
X ₆	Pedisel boyu	cm
X ₇	Kaliks boyu	cm
X ₈	Kaliks dişlerinin boyu	cm
X ₉	Korolla tüpü boyu	cm
X ₁₀	Korolla loblarının boyu	cm
X ₁₁	Korolla rengi	Beyaz:0, Sarı:1, Mor:2
X ₁₂	Taban yaprak sayısı	adet
X ₁₃	Çiçek durumundaki çiçek sayısı	adet
X ₁₄	Stilus uzunluğu (pin çiçeklerin)	mm
X ₁₅	Yaprak boyunun yaprak enine oranı	X ₂ /X ₃

2.3. Moleküler Çalışmalar

2.3.1. DNA İzolasyonu

Arazi çalışmaları sırasında toplanarak numaralandırılmış her örnekten DNA izolasyonunda kullanılmak üzere sağlıklı, taze yapraklar seçilerek silika jel içerisine alınmıştır. Araştırmada kullanılan bitkilerin DNA'sı silika jelde kurutulmuş taze yaprak örneklerden izole edilmiştir. DNA izolasyonunda Doyle ve Doyle (1987) ve Gültepe vd. (2010) metodundan faydalanılmıştır. Bu yöntem doğrultusunda:

Daha önceden seçilerek silika jelde kurutulan yapraklardan her bir örnek için 0,025 g tartılarak tek kullanımlık jilet yardımıyla tek kullanımlık alüminyum folyo üzerinde doğranarak toz haline getirildi. Toz haline getirilmiş numuneler bir ependorf tüpüne aktarıldı ve üzerine önceden hazırlanmış CTAB tamponundan 500 µl [20 µl EDTA, 50 µl Tris, 140 µl NaCl, 100 µl CTAB, 190 µl H₂O] eklendi. Bu haldeki ekstrakta her bir örnek için 0,02 g PVPP (Poli Vinil Polipro Podilen) ve 2,5 µl β-Merkapto Etanol ilave edildi. Karışım bir pipet yardımıyla homojen hale getirildikten sonra 65°C'de 4 saat bekletildi. Bu süre içerisinde tüpler içindeki karışımın homojen olarak kalmasını sağlamak ve çözünmeyi kolaylaştırmak için zaman zaman alt üst edildi. İnkübasyon sonrası tüpler buz üzerine alınarak 1 dk soğumaya bırakıldı. Bütün örnekler oda sıcaklığında 10.000 - 14.000 rpm'de 1dk santrifüj edildi. Santrifüj edilmiş örnekler üzerine 500 µl kloroform eklendikten sonra tüpler homojen olana kadar alt üst edildi. Ardından aynı hızda 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant kısım alınarak yeni tüplere aktarıldı. Üzerine yeniden 500 µl kloroform ilavesi gerçekleştirildikten sonra tüpler 3 - 5 kez alt üst edildi ve aynı hızda 1 dk daha santrifüj edildi. Santrifüj ardından süpernatant kısım alınarak bir önceki aşama aynen tekrarlandı, daha sonra üst faz alınarak yeni bir ependorfa transfer edildi. Tüplerden hacmi en fazla olanın kapasitesi belirlendi ve bu hacim baz alınarak diğer tüplere eşit oranda hacmin % 8'i kadar her tüpe 7,5 M'lık Amonyum Asetat ilave edildi. Tüpler birkaç kez alt üst edildikten sonra oluşan hacmin % 54'ü kadar İzopropanol ilave edildi ve süspansiyon iyice karıştırıldıktan sonra +4°C' de en az 4 saat bekletildi (Yapılan çalışmalarda en iyi sonuç bir gece (18-24 saat arası) beklendiğinde elde edilmiştir.). Örnekler +4°C' de bir gece bekletildikten sonra 3 dk önceki hızda (10.000 - 14.000 rpm) santrifüj edildi, süpernatant kısım atıldıktan sonra, şeffaf pellet üzerine 1ml % 70'lik etanol ilave edildi, şeffaf pellet hareket edene kadar tüpler alt üst edildi. Alkol ilave edilmiş tüpler

3 dk önceki hızda santrifüj edildi, süpernatant döküldükten sonra tüm alkolün uzaklaştırılması için tüpler kapakları açık şekilde 15 dk 37°C' de (ya da oda sıcaklığında 30 – 45 dk) kurumaya bırakıldı. Daha sonra tüplerde bulunan DNA pelleti, 50 µl TE [10 mM Tris HCL, pH: 8,3, EDTA 1 mM, pH:8,0] çözüldü. Pelletin tamamen çözülmesi için örnekler, 15dk 65°C' de su banyosunda tutuldu.

2.3.1.1. Agaroz Jel Elektroforezinde Genomik DNA Tespiti

Örneklere ait DNA'ların izolasyonlarının gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini anlayabilmek için agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılmıştır. İzole edilen DNA' nın kontrolü, 7 µl izole edildiği farz edilen DNA' ya 5 µl yükleme tamponu (% 50 gliserol, % 0,05 bromofenolblue, 0,2 M EDTA) eklenerek agaroz jel ortamında yapılmıştır. On üç hücreli jel tepsisi kullanılarak, % 1'lik agarozda, 1X TAE (Trizma Base, Glasial Asetik Asid, EDTA) tamponunda 15 dk süre ile 80 voltta yürütülen örnekler, 0,25 µg/ml Etidyum Bromür ile boyanmış ve UV ışığı altında Bio-Rad Gel Doc XR+ System cihazında görüntülenmiştir.

2.3.2. PCR Uygulamaları

Yapılan çalışmada elde edilen genomik DNA'lardan ITS ve *matK* olmak üzere iki farklı bölge çoğaltılmıştır. ITS için ITS4 ve IT5 primerleri; *matK* için MG1 ve MG15 primerleri kullanılarak bölgelerin çoğaltma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Fakat *matK* geni üzerinde yapılan çalışmalar araştırma konusu olan taksonlar için ayırt edici sonuçlar vermediği için çalışmaya ITS gen bölgesi üzerinden devam edilmiştir ve *matK* geni üzerinde yapılan çalışmalara tezde yer verilmemiştir.

2.3.2.1. ITS Gen Bölgesinin Çoğaltılması

İzole edilmiş DNA'lardan ITS bölgelerinin çoğaltılması için evrensel ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ve ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') primerleri kullanılmıştır. Bu primerler yardımıyla, nrDNA gen tekrarları arasında kalan ITS1, 5,8S ve ITS2 bölgeleri PCR yoluyla bütün olarak çoğaltılmıştır.

Çift zincirli DNA üzerinde bu bölgelerin çoğaltılma işlemi 200 µl' lik tüplerde; 10X'lik reaksiyon tamponundan 10 µl, 2,5 mM MgCl₂'den 3,5 µl, 0,25 mM dNTP'den 5'er µl (toplamda 20 µl), 50 ng/µl her bir primerden 1 µl, 0,25 µl Taq DNA polimeraz (Promega) ve yaklaşık olarak 50–100 ng kalıp DNA'dan 2 µl içeren karışım distile su ile 50 µl son hacme tamamlanarak gerçekleştirilmiştir.

Yapılan PCR denemeleri sonucunda belirlenen en uygun çoğaltılma şartları ve 33 döngüde gerçekleştirilen termal döngü protokolü:

95 °C'de 1 dk - DNA çift zincirinin ayrılması (ön denatürasyon),

94 °C'de 1 dk - DNA çift zincirinin ayrılması (DNA denatürasyonu)

56 °C'de 0,30 dk - Primerlerin bağlanması (annealing),

72 °C'de 0,40 dk - DNA sentezi (extension),

Toplam 33 döngü,

72 °C'de 5 dk - Son uzatma (final extension)

Şeklinde düzenlenmiş ve PCR uygulamaları Bio-Rad Personal Thermal Cycler cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.3.3. Agaroz Jel Elektrofrezinde PCR Ürünü Tespiti

DNA izolasyonu tamamlandıktan ve PCR çalışmaları sonlandıktan sonra PCR ürününün varlığı agaroz jel elektrofrez yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. PCR ürünlerinin kontrolü genomik DNA kontrolünden farklı olarak doğrudan agaroz jel ortamında gerçekleştirilmiştir. On üç hücreli jel tepsi kullanılarak, % 1'lik agarozda, 1X TAE (Trizma Base, Glisyal Asetik Asit, EDTA) tamponunda 30 - 45 dk süre ile 80 voltta yürütülen örnekler, 0,25 µg/ml Etidyum Bromür ile boyanmış ve UV ışığı altında Bio-Rad Gel Doc XR+ System cihazında görüntülenmiştir.

2.3.4. Baz Dizin Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

PCR ürünleri Macrogen firmasına (Kore) gönderilerek okutturulmuştur. Bu okumaların ilk aşamasını PCR ürünlerin saflaştırılması oluşturmaktadır. Saflaştırmadan sonra PCR ürünleri ITS1 ve ITS2 bölgeleri için ITS4 ve ITS5 primerleri ile okutularak dizin analizleri gerçekleştirilmiştir.

2.3.5. Veri Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

ITS bölgesi (5.8S rRNA bölgesi dahil edilerek) nükleotit sekansları Bioedit v.7.0 (Hall, 1999) programı vasıtasıyla hizalanmıştır. Filogenetik analizler Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA v 4.0.2) programı (Tumara vd., 2004) ile gerçekleştirilmiştir. DNA dizileri Kimura's two parameter modeline (K2P) dayalı olarak Maksimum Parsimoni (MP) analizine (Saitou ve Nei, 1987) tabi tutulmuştur. MP analizinde dış grup olarak *P. veris* L. subsp. *columnae* (Ten.) lüdi (EU643649), *P. longipes* Freyn et Sint. (EU643662), *P. auriculata* Lam. (EU643658), *P. algida* Adams (EU643660), *P. davisii* W.W.Sm. (EU643664) taksonları kullanılmıştır. Bu taksonlara ait veriler NCBI GenBank' dan (URL-1) temin edilmiştir. MP analizi sonucu elde edilen ağaç 1000 bootstrap uygulanarak elde edilmiştir (Felsenstein, 1985).

2.4. Yağ Asidi Analiz Çalışmaları

Araştırma materyalini oluşturan taksonlara ait örnekler daha önceden belirlenen lokalitelerden bütün bitki halinde yaklaşık yarım kg olmak üzere toplanmıştır. Arazide toplanan numuneler poşetlere konularak laboratuvar ortamına getirilmiştir. Temizlenip kök kısımları hariç, gövde yaprak ve çiçek dahil olmak üzere küçük parçalar halinde doğrandıktan sonra numunelerden 30 g tartılarak daha sonra yağ asidi ekstraksiyonu yapılmak üzere dondurucuya yerleştirilmiştir. Yağ asidi içeriğinin belirlenmesi için; daha önceden 30 g tartılıp dondurucuya kaldırılan örnekler 'Soksalet' cihazı kullanılarak susuz eter ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonrası ekstrakttaki yağlardan hidrolizlenerek elde edilen serbest yağ asitleri $\text{BBr}_3 / \text{CH}_3\text{OH}$ lı ortamda metil esterlerine dönüştürme işlemine tabi tutulmuştur. Metil esterlerine dönüştürüldükten sonra GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi) (Agilen5973) kullanılarak örneklerin yağ asidi metil esterlerinin kompozisyonları belirlenmiştir. Yağ asidi metil esterlerinin standartları kullanılarak her bir yağ asidi metil esterinin kolonda alıkonma süreleri saptandıktan sonra, örneklerdeki yağ asidi metil esterlerinin miktarı bu saptanan alıkonma süreleri dikkate alınarak % olarak belirlenmiştir. Yapılan analizlerde yağ asitleri, metil esterlerine dönüştürülerek tespit edilebildiği için elde edilen yağ asidi metil esterlerinin yüzdeleri değerlendirilerek örneklerdeki yağ asidi profili ve miktarları belirlenmiştir.

2.5. Toprak Analiz Çalışmaları

Araştırma materyalini oluşturan taksonlara ait 18 populasyonun toplandığı lokalitelerden, 0-10 cm derinlikten 1'er kg toprak örneği alınmıştır. Alınan toprak örnekleri, laboratuvar ortamında serilerek hava kurusu hale gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutulan örnekler, toprak üstü döküntü kısımları uzaklaştırıldıktan sonra porselen havanlarda usulüne uygun olarak öğütülmüştür. Öğütülen örnekler 2 mm'lik elekten geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Analizler için hazır hale getirilmiş toprak örneklerinde; Topraklardaki elektriksel iletkenlik (EC) ve toprak tepkimesi (pH) cam elektrod metodu ile ölçülmüştür. Aktüel asitlik için topraklar 1/2,5 oranında saf su ile, değişim asitliği için ise 1/2,5 oranında 0,1 N KCl, ile ıslatılıp bir gece bekletildikten sonra ölçülerek bulunmuştur (Gülçür, 1974; Irmak, 1974). Toprak örnekleri üzerinde mekanik analiz (Bouyoucos Hidrometresi ile) Gülçür (1974) ve Irmak'a (1974) göre yapılmıştır. Topraktaki organik karbon Walkley-Black ıslak yakma metodu ile tayin edilmiştir. Organik karbondan gidilerek toprağın organik maddesi hesaplanmıştır (Gülçür, 1974; Kantarcı, 1979).

Topraklarda bulunan bitki besin elementlerinin tayini, topraklar 1 Normal Nötr Amonyum Asetat çözeltisi ile özütlendikten sonra süzekte toplanan katyonların "Shimadzu AA-6601 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi" ile ölçülmek suretiyle yapılmıştır (Gülçür, 1974; Irmak, 1974)

Toprak örneklerinin tarla kapasitesi ve solma sınırındaki nem tayinleri Soil Moisture Equipment co.' nun seramik levhalı basınç cihazı ile yapılmıştır (Gülçür, 1974; Özyuvacı, 1978). Toprak örneklerinin bitkiler için faydalanılabilir su kapasiteleri, tarla kapasitesi sınırındaki nem miktarından solma sınırındaki nem miktarının farkı alınarak hesaplanmıştır (Kantarcı, 2000).

3. BULGULAR

3. 1. Morfolojik Bulgular

Burada ortaya konan morfolojik bulgular araştırma alanı olarak seçilen noktalarda yapılan arazi çalışması sonucu toplanan 18 populasyona dayanmaktadır. Toplanan örneklerin öncelikle alt tür düzeyinde teşhisleri yapılmış ve *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P vulgaris* subsp. *sibthorpii*' ye ait oldukları tespit edilmiştir. Tespit edilen bu iki takson üzerinde önceden belirlenmiş 15 adet morfolojik karakterin ölçümü yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen veriler alttür ve populasyon düzeyinde Tablo 3' de verilmiştir. Morfolojik ölçümlerde kullanılan karakterlerden korolla rengi (X₁₁) hariç, Türkiye Florasında iki alttürün ayrımı için kullanılmayan, tarafımızdan tespit edilmiş karakterlerdir. 18 populasyona ait 95 adet örneğin incelenmesi sonucu her bir taksonun genişletilmiş betimi ve bu betimlere dayalı teşhis anahtarı hazırlanmıştır. Ayrıca her bir taksona ait çeşitli renkteki populasyonlar da arazide fotoğraflanarak taksonlar arası ve takson içi çiçek polimorfizmi de tespit edilmeye çalışılmıştır.

P. vulgaris' in Türkiye Florasındaki (Lamond, 1978) teşhis anahtarı arazi gözlemleri, çok sayıda örneğin morfolojik olarak incelemesinden elde edilen bilgiler, bazı özel çalışmalar ve çeşitli flora kitapları dikkate alınarak yeniden düzenlenmiştir.

1. Çiçekler taban yaprakları arasından tek tek çıkar veya çok nadiren şemsiye şeklinde*P. vulgaris*
2. Çiçekler beyaz ya da kirli beyaz-krem rengi 3
3. Rozet yaprakların alt yüzeyi orta damar dışında tamamen tüysüz ya da seyrek kısa basit tüylü, orta damar uzun basit tüylü. Yapraklar seyrek damarlı..... subsp. *vulgaris*
3. Rozet yaprakların alt yüzeyi (orta damar dahil) yoğun uzun basit tüylü. Yapraklar yoğun damarlı.....subsp. *sibthorpii*
2. Çiçekler farklı renklerde 4
4. Çiçekler sarı, ya da açık yeşil. Rozet yaprakların alt yüzeyi orta damar dışında tamamen tüysüz ya da seyrek kısa basit tüylü, orta damar uzun basit tüylü . Yapraklar seyrek damarlı.. subsp. *vulgaris*

4. Çiçekler mor, pembe ya da lila. Rozet yaprakların alt yüzeyi (orta damar dahil) yoğun uzun basit tüylü. Yapraklar yoğun damarlısubsp. *sibthorpii*

1. Çiçekler belirgin şemsiye şeklinde, çoğunlukla tek daire veya nadiren iki daire halinde.

3.1.1. *P. vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris*

Çok yıllık, otsu bitkiler. Türkiye Florası (Lamond, 1978)' nda Bursa, Bolu, Kastamonu, Amasya, Samsun, Trabzon, Kayseri, Adana, Aydın ve Maraş illerinden kaydı verilmiştir (Şekil 1). Bu takson 500-2100 m yükselti aralığında yayılış gösterir. Çiçeklenme zamanı Mart-Haziran aylarıdır. Taksona ait genel morfolojik özellikler toplanan örnekler üzerinde stereo-mikroskop altında yapılan incelemelerle tespit edilmiş ve genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir.

Ayrıca bu taksona ait arazi ve herbaryum örneklerinin fotoğrafları Şekil 5'de verilmiştir.

4,5-11 cm, rizomlu ve çok sayıda ikincil köklere sahip otsu bitkiler. Yapraklar basit ve tabanda rozet biçiminde toplanmış. Rozet yapraklar 8-16 adet, 6-11 X 1,5-3 cm ebatında, geniş ters yumurtamsı-spatül ya da ters mızraksı. Seyrek damarlı. Yaprak ayasının üst yüzeyi tüysüz ya da kısa basit tüylü, alt yüzeyi ise orta damar üzerinden daha yoğun uzun tüyler olmak üzere, seyrek kısa basit tüylü veya damarlar hariç tamamen tüysüz. Yaprak tabanı dereceli şekilde yaprak sapına doğru daralan (attenuat) veya birdenbire daralan (cuneat), yaprak ucu küt veya yuvarlak. Yaprak kenarları dalgalı-dişli veya dişli. Pedisel 3-10 cm. Kaliks tüpü 1-1,7 cm, silindirik, 5 dişli, diş derinliği 0,3-0,8 cm, her biri belirgin bir damarlı. Korolla tüpü 1,2-2,1 cm, kaliks tüpüyle eşit ya da ondan daha uzun. Korolla 5 loplulu, loblar 0,5-1,3 cm ters yüreksi (obcordate). Korolla sarı, açık yeşil, beyaz, kirli beyaz ya da krem rengi. Heterostili mevcut, stilus; pin çiçeklerde 8-24 mm, thrum çiçeklerde 4-11 mm. Çiçekler bitkinin taban kısmından tek tek çıkar. Bitkiler öbekler şeklinde ve her bir öbekte 5-20 arası çiçek bulunur. Brakteler şerit şeklinde (linear) veya mızraksı linear-lanseolat, 1-1,5 cm, taban yaprakları arasında saklı. Kapsülü 0,6-1 cm ve kaliksten kısa, meyve sapı olgunlukta aşağıya doğru eğik.



Şekil 5. *P. vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris*. (a, c): Genel görünüş, (b, d): Herbarium örneği (e): Korolla renkleri değişimi

3. 1. 2. *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns.) W.W.Sm. & Forrest

Çok yıllık, otsu bitkiler. Türkiye Florası (Lamond, 1978)' nda Tekirdağ, İstanbul, Bursa, Zonguldak, Kastamonu, Ordu, Trabzon, Artvin illerinden kaydı verilmiştir (Şekil 1). Bu takson 0-850 m yükselti aralığında yayılış gösterir. Çiçeklenme zamanı Mart-Mayıs aylarıdır. Taksona ait genel morfolojik özellikler toplanan örnekler üzerinde stereo-mikroskop altında yapılan incelemelerle tespit edilmiş ve genişletilmiş betimi aşağıda verilmiştir.

Ayrıca bu taksona ait arazi ve herbaryum örneklerinin fotoğrafları Şekil 6'da verilmiştir.

6-18 cm, rizomlu ve çok sayıda ikincil köklere sahip otsu bitkiler. Yapraklar basit ve tabanda rozet biçiminde toplanmış. Rozet yapraklar 7-20 adet, 5-18 X 1,5-6 cm ebatında, geniş ters yumurtamsı-spatül ya da ters mızraksı. Yoğun damarlı. Yaprak ayasının üst yüzeyi tüysüz ya da kısa basit tüylü, alt yüzeyi ise orta damar da dahil olmak üzere yoğun şekilde basit uzun tüylü ya da yünsü. Zemin ile orta damar üzerindeki tüylenme farklılık göstermez. Yaprak tabanı dereceli şekilde yaprak sapına doğru daralan (attenuat) veya birdenbire daralan (cuneat), yaprak ucu küt veya yuvarlak. Yaprak kenarları dalgalı-dişli veya dişli. Pedisel 4-15 cm. Kaliks tüpü 0,9-1,9 cm, silindirik, 5 dişli, diş derinliği 0,4-0,9 cm, her biri belirgin bir damarlı. Korolla tüpü 1,2-2 cm, kaliks tüpüyle eşit ya da ondan daha uzun. Korolla 5 loplul, loplar 0,7-1,5 cm ters yüreksi (obcordate). Korolla mor, pembe, lila, beyaz, kirli beyaz ya da krem rengi. Heterostili mevcut, stilus; pin çiçeklerde 10-24 mm, thrum çiçeklerde 5-11 mm. Çiçekler bitkinin taban kısmından tek tek çıkar (nadiren kısa bir pedisel üzerinde şemsiye şeklinde). Bitkiler öbek şeklinde ve her bir öbekte 6-55 arası çiçek bulunur. Brakteler şerit şeklinde (linear) veya mızraksı linear-lanseolat, 1-1,5 cm, taban yaprakları arasında saklı. Kapsülü 0,6-1 cm, ve kaliksten kısa, meyve sapı olgunlukta aşağıya doğru eğik.



Şekil 6. *P. vulgaris* Huds. subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns.) W.W.Sm. & Forrest. (a, c): Genel görünüş, (b, d): Herbarium örneği (e): Korolla renkleri değişimi

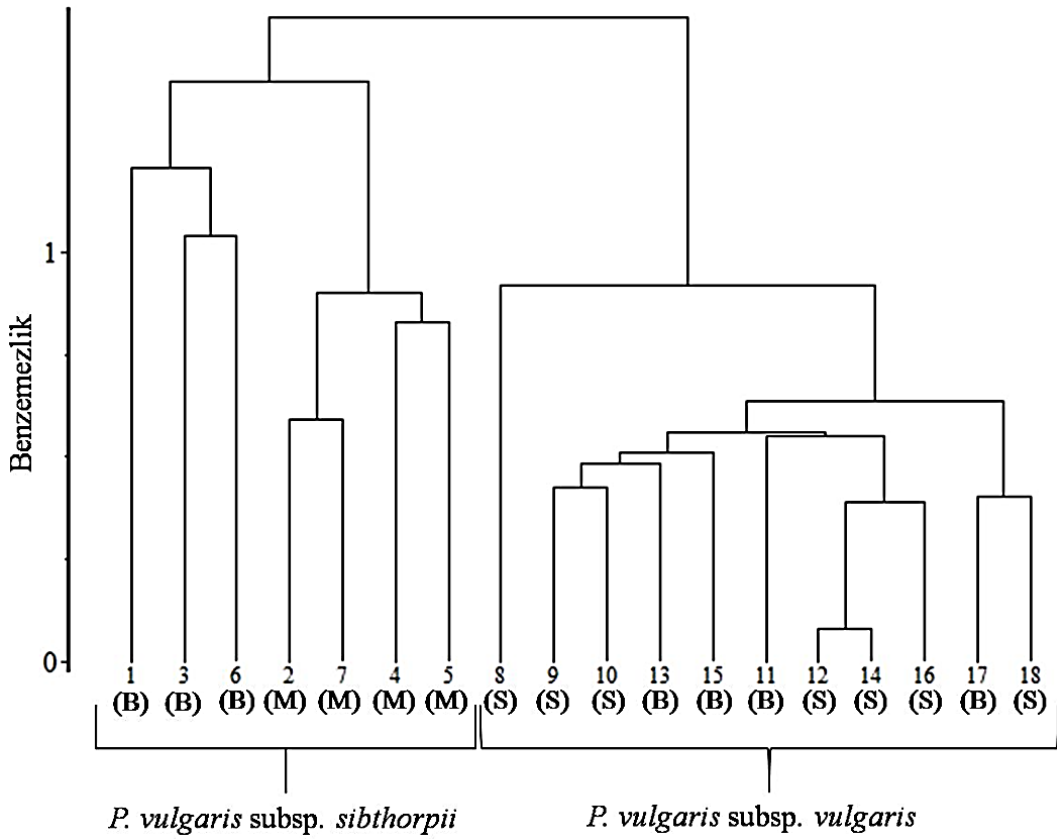
3.2. Nümerik Bulgular

Daha önceki bölümde tanımlanan *P. vulgaris*' in iki alttürü üzerinde gerçekleştirilen ilk nümerik analiz kümeleme analizdir (CA). Bu analizde ilk işlem, Tablo 3' de verilen ham veri matrisi aracılığı ile iki alttürün birbirine olan uzaklıklarının bilgisayar yardımıyla hesaplanmasıdır. Takson içi ve taksonlar arası ilişkiyi en iyi yansıtan

dendrogramı belirlemek amacı ile 15, 12 ve 8 karakter kullanılarak 3 farklı şekilde CA gerçekleştirilmiştir. Ancak tezde, geleneksel taksonomiye en yakın ilişkiyi gösteren 8 morfolojik karaktere dayalı çizilen dendrogram verilmiştir (Şekil 7). Bu dendrogram incelendiğinde *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*' e ait 11 örneğinin 8 numaralı populasyon dışında bir grup, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' ye ait 7 populasyon örneğinin ise iki grup farklı bir grup oluşturduğu görülmektedir.

Tablo 3. Nümerik analizlerde kullanılan ham veri matrisi

Takson	Pop. No.	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃	X ₁₄	X ₁₅
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	1	13,8	12,1	3,22	0	2,08	9,5	1,46	0,5	1,54	0,96	0	16	40	14,6	3,75
	2	12,5	11,91	3,3	0	1,73	8	1,41	0,6	1,58	1	2	9	29	15,33	3,60
	3	9,53	13,3	3,91	0	1,76	15,3	1,76	0,7	1,42	1,08	0	15	16	10,2	3,40
	4	8,84	14,82	3,22	0	1,84	6,84	1,72	0,62	1,34	1,06	2	14	21	10,93	4,60
	5	7,6	10,5	2,4	0	1,32	5,8	1,32	1,14	1,46	0,88	2	10	14	10,5	4,37
	6	8,64	10,8	3,44	0	1,28	7,1	1,32	0,68	1,74	1,18	0	10	15	11,50	3,13
	7	11,92	11,24	2,5	0	1,5	8,9	1,32	0,54	1,7	1,08	2	9	13	12,1	4,49
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	8	8	10,58	3	1	1,42	3,73	1,3	0,46	1,42	0,88	1	16	17	10,3	3,52
	9	7,8	9,06	2,64	1	1,18	5,32	1,34	0,38	1,32	0,84	1	10	11	10,5	3,43
	10	8,55	8,33	2,5	1	1,93	9,56	1,53	0,56	1,61	0,95	1	9	15	10,66	3,33
	11	7,9	9,63	3	1	1,8	5,66	1,55	0,52	1,75	0,83	0	12	16	10,5	3,21
	12	8,02	7,56	2,06	1	1,14	5,62	1,36	0,48	1,64	0,9	1	11	20	9	3,66
	13	7,66	8,92	2,66	1	1,55	6,88	1,46	0,9	1,7	1,16	0	8	6	12,33	3,35
	14	8	7,06	2,14	1	1,7	5,6	1,6	0,5	1,48	1,12	1	11	20	19,66	3,29
	15	9,1	6,4	2,2	1	1,38	6,3	1,42	0,56	1,72	1,2	0	10	14	17,1	2,90
	16	9,39	8,4	2,68	1	1,74	4,9	1,66	0,68	1,4	1,2	1	12	19	14,23	3,13
	17	6,82	5,4	1,6	1	1,3	4,5	1,36	0,5	1,52	1,1	0	11	11	15	3,37
	18	7,42	6,44	1,9	1	0,84	4,18	1,2	0,66	1,4	0,96	1	11	7	8	3,38



Şekil 7. İncelenen populasyonların morfolojik karakterlere göre durumu (B: Beyaz, M: Mor, S: Sarı)

Morfolojik karakterlerden elde edilen ham veri matrisi üzerinde gerçekleştirilen diğer bir analiz temel bileşenler analizi (PCA) dir. Bu analiz ile takson içi ve taksonlar arası ilişkiyi ortaya koyan en etkin karakterler tespit edilmiştir. PCA' da ilk işlem olarak ham veriler aracılığı kovaryans matrisleri oluşturulmuştur. Kovaryans matrisi Eigen analizi ile değerlendirilerek takson içi ve taksonlar arası ilişkiyi en iyi ortaya koyan yeni bileşenler saptanmıştır. 15, 12 ve 8 karakter kullanılarak yapılan PCA analizi sonucu elde edilen yeni bileşenler Tablo 4 de' verilmiştir. Tablo 4 incelendiğinde görüleceği gibi bileşenlerin açıkladıkları varyasyon değerleri 1. bileşenden 3. bileşene doğru giderek azalmaktadır.

15 değişkenle yapılan PCA analizinde, 1. bileşen % 39,74, 2. bileşen % 22,85, 3. bileşen % 12,91'dir. Böylece bu ilk 3 bileşen varyasyonun %75,50'sini açıklarken geri kalan bileşenler ise % 24,50' ini açıklamaktadır. 12 değişkenle yapılan PCA analizinde ise 1. bileşen % 37,33, 2. bileşen % 18,29, 3. bileşen % 13,99' dur. Böylece bu ilk 3 bileşen varyasyonun % 69,61' ini açıklarken geri kalan bileşenler ise % 30,39' unu açıklamaktadır.

8 değişkenle yapılan PCA analizinde ise 1. bileşen % 51,49, 2. bileşen % 17,13, 3. bileşen % 12,74' dir. Böylece bu ilk 3 bileşen varyasyonun % 81,36'sını açıklarken geri kalan bileşenler ise % 18,64'ünü açıklamaktadır.

Tablo 4. Farklı sayıda morfolojik karakter kullanılarak yapılan PCA analizinde elde edilen temel bileşenler ve varyasyon değerleri (%)

Karakter Sayısı	Bileşen 1	Bileşen 2	Bileşen 3	Toplam
15 Değişken	39,74	22,85	12,91	75,50
12 Değişken	37,33	18,29	13,99	69,61
8 Değişken	51,49	17,13	12,74	81,36

Yukarıda da açıklandığı üzere PCA analizi 15, 12 ve 8 karakter üzerinde ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Yapılan analiz sonucu 8 karakter kullanılarak en iyi sonuç elde edilmiştir. Bu nedenle tezde yalnızca 8 karakterin PCA analizi sonucu elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

3.3. Moleküler Bulgular

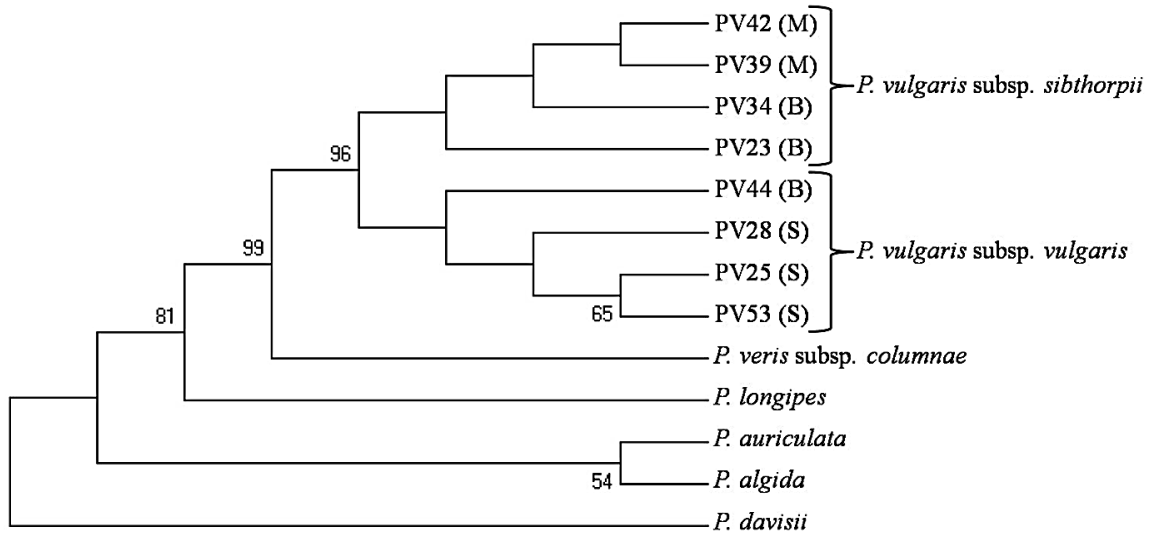
Araştırma bölgesinden toplanan 2 taksona ait 18 örneğinin genomik DNA'ları, daha önceki bölümde bahsedilen izolasyon prosedürleri takip edilerek izole edilmiştir. Evrensel primerler kullanılarak nrDNA ITS bölgeleri çoğaltılmıştır. Böylece her taksona ait genomik DNA üzerinden çoğaltılmış, ITS bölgesinin tamamı (ITS1, 5,8S rRNA ve ITS2) elde edilmiştir.

Çalışılan taksonlara ait ITS bölgelerinin DNA baz sıraları BioEdit programı kullanılarak hizalanmış ve örnekler arasındaki baz farklılıkları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonrasında taksonlara ait nrDNA ITS bölgesinin baz dizinlerinin uzunluğunun, alttür *vulgaris* için 708-713 bp; alttür *sibthorpii* için 711-716 bp ve % GC içeriğinin, alttür *vulgaris*' te 52,8-53,2; alttür *sibthorpii*' de 53,1-53,3 arasında değiştığı bulunmuştur. Pürin/Pirimidin oranının alttür *vulgaris*' te 1,002-1,022 arasında, alttür *sibthorpii*' de 1,011-1,019 arasında değiştığı tespit edilmiştir. Çalışılan bütün örneklerinin ITS bölgeleri arasındaki benzerlik ilişkileri, MEGA4 programında "Pairwise Distance" analizi sonucu

belirlenmiştir. Dış gruplar hariç tüm taksonların % 98,3–100 arasında benzerlik göstermektedir.

Çalışılan örnekler arasında moleküler açıdan çok fazla baz farkı bulunmadığından alttür *vulgaris* için 4, alttür *sibthorpii* için ise seçilmiş 4 populasyon örneği Maksimum Parsimoni (MP) analizinde kullanılmıştır. Seçilen taksonlara ait ITS bölgelerinin baz dizinlerinin MP ağaç topolojileri, MEGA 4 kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 8). Parsimoni ağaç topolojileri oluşturulurken dış grup olarak *Primula L.* cinsine ait *P.veris*, *P. longipes*, *P. auriculata*, *P. algida*, *P. davisii* taksonları kullanılmıştır. Bu taksonlara ait GenBank’ tan temin edilen verilere dayanmaktadır

ITS dizin analizleri sonucunda elde edilen MP ağacında çalışılan iki alttüre ait 8 populasyon örneğinin alttür *vulgaris* ve alttür *sibthorpii* ye karşılık gelen iki grup altında toplandığı görülmektedir.



Şekil 8. ITS verilerinin MEGA programı ile analizinden elde edilen Maksimum Parsimoni ağacı (B: Beyaz, M: Mor, S: Sarı)

3.4. Yağ Asidi Analiz Bulguları

P. vulgaris' in iki alttürünün yağ asidi profilini belirlemek amacıyla 36 örnek analiz edilmiştir. Yapılan analizde her bir örnekte 31 farklı yağ asidi çalışılmıştır. Ancak çalışılan 24 yağ asidinin, çok düşük düzeyde değişim göstermesi dolayısıyla bunlara ait verilerin çalışmadan çıkarılmasına karar verilmiştir. Geri kalan ve diğerlerine göre daha fazla

değişim gösteren 7 çeşit yağ asidine ait sonuçlar; populasyon, farklı renk ve yükselteleri de dikkate alınarak Tablo 5’ te verilmiştir. Tabloya 5’de de görüldüğü üzere alttür *sibthorpii*’de salisilik asit 1,3-8,88; laurik asit 0,1-0,55; miristilk asit 0,93-2,36; palmitik asit 4,35-11,4; stearik asit 2-6,4; araşidik asit 0,67-1,3; behenik asit 0,37-1 arasında değişim gösterirken, alttür vulgaris’ de salisilik asit 0,8-12,5; laurik asit 0,2-0,87; miristilk asit 0,48-1,7; palmitik asit 3,25-9; stearik asit 1,4-3,45; araşidik asit 0,6-1,35; behenik asit 0,4-0,85 arasında değişim göstermektedir.

Yağ asidi analizleri sonucu elde edilen bulgular istatistiksel analizlere tabi tutulmuş, taksoniçi ve taksonlara arası seviyede renk ve yükseltiye göre yağ asitleri yönünden bulunan farklılıkların anlamlılık düzeyleri test edilmiştir.

Tablo 5. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonlarının yağ asidi içerikleri (%) (B: Beyaz, M: Mor, S: Sarı)

Takson	Yükseklik (m)	Renk	Salisilik asit	Laurik asit	Miristik asit	Palmitik asit	Stearik asit	Araşidik asit	Behenik asit
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	8	B	8,88	0,45	1,93	6,6	3,2	1,15	0,7
	8	M	2,67	0,1	1,07	7,43	3,33	1	0,47
	211	B	5,3	0,55	1,15	4,35	2	1	0,7
	211	M	4,23	0,23	0,93	4,27	2,23	0,67	0,57
	404	B	5,93	0,53	1,5	5,6	3,03	1	0,63
	404	M	1,3	0,2	1,1	11,4	6,4	1,3	1
	685	M	6,55	0,3	2,36	6,4	3,9	0,95	0,37
ORTALAMA			5,61 ± 4,9	0,35 ± 0,29	1,56 ± 1,36	6,20 ± 2,24	3,23 ± 1,14	0,99 ± 0,39	0,60 ± 0,29
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	211	S	9,7	0,7	1,7	7,95	3,45	0,75	0,85
	404	S	11,5	0,45	0,9	5,1	2,4	0,8	0,55
	600	S	2,2	0,2	1,2	3,25	1,7	1,25	0,25
	600	B	0,9	0,3	1,5	5,2	3,1	1,6	0,6
	923	S	1,2	0,2	1,5	5,4	2,9	0,7	0,6
	923	B	6,4	0,3	1	5,1	2,4	1,2	0,8
	1300	S	12,5	0,5	0,65	3,95	2,6	1,35	0,6
	1300	B	11,6	0,5	0,5	3,7	1,4	1,1	0,5
	1686	S	9,67	0,87	0,9	8,33	3,3	1,57	0,4
	1686	B	0,8	0,5	1,1	9	3,1	1,7	0,8
	2120	S	10,43	0,45	0,48	5,5	2,3	0,8	0,63
ORTALAMA			8,17 ± 5,87	0,50 ± 0,32	0,96 ± 0,51	5,80 ± 2,51	2,62 ± 0,93	1,13 ± 0,82	0,58 ± 0,63

3.5. Toprak Analiz Bulguları

P. vulgaris' in iki alttürünün yayılış gösterdiği alanlardan toplanan toprak örnekleri öncelikli olarak hava kurusu haline getirildikten sonra fiziksel ve kimyasal analize tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucu elde edilen veriler Tablo 6'da verilmiştir.

Toprak örneklerinin pH ölçümleri yapılmış ve toprakların asit ve alkali özellikleri ortaya konarak toprak reaksiyonları belirlenmiştir. Tablo 6'da da görüldüğü üzere *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* taksonunun yetiştiği toprak örneklerinin pH'nın 5,3-7,8 arasında; *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonunun toplandığı toprak örneklerinin ise pH'nın 5,1-7,5 arasında değiştiği bulunmuştur. Yükselti aralıkları dikkate alınarak değerlendirildiğinde alttür *sibthorpii*' nin yayılış alanı içerisinde kalan 0-200 m aralığında pH değeri 5,11-5,27 arasında değişirken, alttür *sibthorpii* ve alttür *vulgaris*' in birlikte yayılış gösterdiği 200-700 m aralığında pH değeri 6,87-7,55 aralığında, alttür *vulgaris*' in yayılış alanı içerisinde kalan 700-2200 m aralığında ise pH değerinin 5,32-6,4 aralığında değiştiği görülmektedir.

Toprak örneklerinin fiziksel analizleri yapılmış ve sahip oldukları taneciklerine göre toprak tekstürü belirlenmiştir. Tablo 6'da da görüldüğü üzere toprak örneklerine ait tekstür özellikleri farklı lokaliteye göre kumlu balçık, balçıklı kil, kumlu kil ve kumlu-killi balçık olarak sınıflandırılmıştır. Alttür *sibthorpii*'nin yetiştiği toprakların kumlu-killi, alttür *vulgaris*' in yetiştiği toprakların kumlu-balçıklı olduğu tespit edilmiştir.

Bitki gelişiminde önemli rol oynayan makro ve mikro besin elementlerinin toprak örnekleri içerisinde bulunma miktarları da yapılan analizler sonucu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 7'de verilmiştir.

Toprağın fiziksel ve kimyasal analizleri sonucu elde edilen bulgular istatistiksel analizlere tabi tutulmuş, takson içi ve taksonlara arası seviyede renk ve yükseltiye göre toprak özellikleri yönünden bulunan farklılıkların anlamlılık düzeyleri test edilmiştir.

Tablo 6. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonlarına ait toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (B: Beyaz, M: Mor, S: Sarı; B.Ki: Balçıklı Kil, Ku.Ki: Kumlu Kil, Ku.Ki.B: Kumlu Killi Balçık, Ku.B: Kumlu Balçık; Ç.H.Al: Çok Hafif Alkali, H.Al: Hafif Alkali, Ç.H.As: Çok Hafif Asit, H.As: Hafif Asit, O.Ş.As: Orta Şiddette Asit, Ş.As: Şiddetli Asit; TKSM: Tarla Kapasitesi Su Miktarı, SNSM: Solma Noktası Su Miktarı, FSK: Faydalanılabilir Su Miktarı)

Takson	Yükseklik (m)	Renk	C (%)	OM (%)	N (%)	pH	pH cinsi	EC	Kum (%)	Kil (%)	Toz (%)	Tekstür	TKSM (%)	SNSM (%)	FSK (%)
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	8	B	3,00	6,72	0,336	5,27	Ş.As	0,1	69,36	22,25	8,40	B.Ki	25,582	14,396	11,186
	8	M	4,46	9,99	0,499	5,11	Ş.As	0,107	73,49	15,78	10,73	B.Ki	27,045	17,286	9,759
	211	B	5,11	11,43	0,572	6,87	Ç.H.As	0,188	55,14	28,09	16,77	Ku.Ki	27,095	18,904	8,191
	211	M	4,11	9,20	0,461	7,43	H.Al	0,205	56,86	28,06	15,08	Ku.Ki	26,572	16,595	9,977
	404	B	5,22	11,70	0,585	7,45	H.Al	0,233	59,21	30,33	10,46	Ku.Ki	27,718	17,260	11,557
	404	M	2,95	11,08	0,554	7,46	H.Al	0,208	61,18	30,47	8,35	Ku.Ki	26,429	16,161	10,268
	685	M	4,01	8,97	0,449	7,51	H.Al	0,227	49,82	37,21	12,97	B.Ki	45,242	18,908	26,334
ORTALAMA			4,1±0,9	9,9±1,8	0,49±0,1	6,7±1,1	Ç.H.As	0,18±0,06	60,7±8,2	27,5±6,8	11,8±3,3	Ku.Ki	29,4±7,0	17,1±1,6	12,5±6,2
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	211	S	3,82	8,54	0,428	7,47	H.Al	0,197	59,37	26,39	14,24	Ku.Ki	26,211	16,241	9,970
	404	S	5,22	11,69	0,584	7,55	H.Al	0,208	59,47	30,30	10,24	Ku.Ki	26,956	17,877	9,079
	600	S	5,62	12,58	0,629	7,39	Ç.H.Al	0,188	59,65	26,21	14,14	Ku.Ki	23,235	16,790	6,445
	600	B	3,35	7,49	0,375	7,08	Ç.H.Al	0,141	53,46	34,13	12,41	B.Ki	24,986	13,603	11,383
	923	S	3,77	8,45	0,422	6,4	H.As	0,184	52,61	32,65	14,74	B.Ki	29,193	15,560	13,633
	923	B	1,35	3,02	0,151	6,93	Ç.H.As	0,122	50,73	38,79	10,48	B.Ki	28,749	17,301	11,448
	1300	S	11,08	24,81	1,241	5,79	O.Ş.As	0,15	75,34	11,58	13,08	Ku.B	39,878	29,225	10,653
	1300	B	9,28	20,77	1,039	5,33	Ş.As	0,121	72,76	9,81	17,43	Ku.B	38,179	23,610	14,569
	1686	S	9,27	20,76	1,038	5,86	O.Ş.As	0,164	73,67	13,59	12,74	Ku.B	32,669	23,130	9,539
	1686	B	5,32	11,90	0,595	5,58	O.Ş.As	0,119	69,70	15,46	14,83	Ku.Ki.B	28,823	17,042	11,781
	2120	S	8,71	19,49	0,975	5,32	Ş.As	0,129	80,91	11,08	8,01	Ku.B	33,437	24,156	9,281
ORTALAMA			6,1±3,1	13,6±6,9	0,68±0,3	6,4±0,9	H.As	0,16±0,03	64,3±10,5	22,7±10,6	12,9±2,6	Ku.B	30,2±5,3	19,5±4,8	10,7±2,2

Tablo 7. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonlarına ait toprak örneklerinin elementer analizleri
(B: Beyaz, M: Mor, S: Sarı)

Takson	Yükseklik (m)	Renk	Ca (ppm)	Mg (ppm)	K (ppm)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	8	B	2914,93	568,82	282,61	200,88	37,80	0,24	1,69	23,89
	8	M	2132,98	552,05	417,33	239,22	44,74	0,17	1,88	28,58
	211	B	4637,37	625,26	212,73	278,22	2,90	0,14	2,00	38,40
	211	M	19593,00	585,73	199,28	241,75	3,82	0,93	1,57	42,43
	404	B	10798,16	401,36	1001,99	177,32	1,93	0,48	2,64	40,86
	404	M	9192,60	476,84	709,00	231,23	2,73	0,52	2,41	39,72
	685	M	15353,00	503,33	403,35	203,14	6,76	0,43	1,88	40,84
ORTALAMA			9232,7±6566	530,48±75,56	460,9±294,8	224,54±33,38	14,38±18,54	0,41±0,27	2,01±0,39	36,39±7,17
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	211	S	21524,44	415,73	282,08	317,09	4,19	0,65	1,50	41,78
	404	S	10849,55	398,16	869,27	203,14	1,77	0,46	2,45	39,91
	600	S	6625,38	523,96	359,42	201,81	4,33	0,73	2,07	39,20
	600	B	4632,98	565,89	386,18	194,22	7,63	0,91	1,61	34,07
	923	S	5425,97	760,65	343,58	260,78	16,38	0,16	1,66	35,34
	923	B	4368,87	1230,56	256,26	214,86	10,23	0,21	1,75	26,96
	1300	S	3974,56	551,12	222,31	102,37	15,77	0,02	1,69	24,39
	1300	B	2263,57	361,18	187,86	101,68	27,01	0,02	1,00	12,72
	1686	S	2432,10	427,40	509,66	160,94	18,73	0,21	2,51	20,39
	1686	B	1756,31	326,84	524,60	177,64	16,02	0,26	2,27	19,87
	2120	S	1638,17	265,57	341,93	115,10	28,78	0,01	1,94	17,94
ORTALAMA			5953,8±5810	529,73±369,5	389,38±191,3	186,33±66,37	13,71±9,04	0,33±0,31	1,86±0,45	28,42±10,1

4. TARTIŞMA

Bu çalışma ile *Primula vulgaris* Huds.'un iki alttürü morfolojik, moleküler, yağ asidi ve toprak özellikleri yönünden çok sayıda populasyon üzerinden ele alınmıştır. Bu tür heterostilus özelliği, doğal hibritleşmeleri, renk polimorfizimi, kültürel formlarının olabilmesi, sıcaklık ve habitat değişimine tepkisi nedeniyle çok sayıda moleküler ve ekolojik çalışmalara konu olmuştur.

Bu tür ülkemizde *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* olmak üzere iki alt tür ile temsil edilmektedir. Avrupa' da alttür *vulgaris*, alttür *balearica* ve alttür *sibthorpii* olmak üzere üç alttüre ayrılmıştır (Valentine ve Kress, 1972). Rus Florasında ise bu taksonlar alttür düzeyinde değil *P. vulgaris* ve *P. sibthorpii*, olarak tür düzeyinde adlandırılmışlardır. *P. komarovii*, *P. woronovii* ve *P. abchasica* diye adlandırılan taksonlar ise *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin sinonimleri olarak kabul görmektedir (Fedorov, 1967). Dünyada bu türe bağlı; *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*, *P. vulgaris* subsp. *balearica* (Milk.) W. W: Smith & Forest., *P. vulgaris* subsp. *atlantica* (Maire & Wilczek) Greuter & Burdet., *P. vulgaris* subsp. *rubra* (Sm.) Arcangeli (subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns.) W.W.Sm. & Forrest.), *P. vulgaris* subsp. *heterochroma* (Staph) W.W.Sm. & Forrest. olmak üzere beş alttür bulunmaktadır (Jacquemyn, 2009).

Türkiye Florasında (Lamond, 1978) da belirtildiği gibi mevcut arazi çalışmalarında *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* populasyonları arasında bazı bireylerin umbel (şemsiye) şeklinde çiçek kuruluna sahip oldukları gözlenmiştir. Literatürde yapılan araştırmalarda bu örneklerin Miller (1923) tarafından *P. vulgaris* var. *caulescens* W. Koch olarak adlandırıldıkları tespit edilmiştir. Ancak yine literatür verileri incelendiğinde söz konusu bu taksonun *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin eş adları arasında yerini aldığı tespit edilmiştir.



Şekil 9. Şemsiye çiçek kuruluna sahip *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*. a: Genel görünüş, b: Herbarium örneği

Bu türde görülen yoğun hibritleşmelerden dolayı birçok ülke florasında olduğu gibi Türkiye Florasında da bu iki alttürü birbirinden ayırmada çok belirgin karakterler ortaya koyulmamaktadır. Ayrıca bu iki alttür, birçok ülkede olduğu gibi ülkemizin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde aynı alan içinde ve belli yükseklik aralığında bir arada doğal olarak yetişmektedir. Türkiye Florasında (Lamond, 1978) bu iki taksonu korolla rengi ve yayılış yükseltisine göre ayırmıştır. Avrupa Florasında (Valentine ve Kress, 1972) mevcut olan üç alttür korolla rengi, yaprak ayasının şekli ve yaprak alt yüzeyinin tüy durumu ile tanımlanmıştır. Ancak yaprak ayasının yaprak sapına doğru daralma biçimini ülkemiz taksonlarını ayırt etmek oldukça yetersiz kalmaktadır.

Benzer korolla rengine sahip benzer yükseklikte yayılış gösteren bu iki taksonu yalnızca sınırlı karaktere göre ayırmak hatalara sebep olabilir. Bu durumun mutlaka ilave morfolojik karakterlerle desteklenmesi gerekir. Bu çalışmada *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*'ye ait populasyon örnekleri üzerinde önceden belirlenmiş 15 morfolojik karakterin ölçümü yapılarak bu sorun aşmaya çalışılmıştır. İncelenen morfolojik karakterler çeşitli nümerik yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan analizde gövde, yaprak ve çiçek karakterleri üzerinde durulmuştur. Çeşitli floralara

kitapları (Valentine ve Kress, 1972, Fedorov, 1967, Lamond, 1978) ve bazı özel çalışmalarda (Shipunov vd., 2011; Uzuner, 2006) yer alan karakterler ile bu çalışmada ilk kez tarafımızdan incelenen karakterler kullanılmıştır.

Shipunov vd. (2011), yaptığı çalışmada iki takson için ayırt edici olduğu düşünülen 8 karakteri (kaliks boyu, kaliks dişleri boyu, korolla tüpü boyu, korolla lob boyu ve eni, stilus uzunluğu, yaprak ayası boyu ve yaprak sapı boyu) ölçmüştür. Shipunov vd. (2011), korolla renginin bu iki taksonu alttür olarak ayırmada yeterli olabilecek güvenli bir karakter olmadığını ve daha güvenilir morfolojik ya da moleküler karakterlerle desteklenmesi gerektiğini savunmaktadır. Karlsson' un (2002) yaptığı çalışma da Shipunov vd. (2011)' nin çalışmasını destekler niteliktedir. Karlsson (2002)'a göre *Primula*' da korolla rengi ayırt edici sağlam bir karakter değildir ve sıcaklığa bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Sıcaklık ve toprak gibi ekolojik faktörlerin çiçek renginin değişmesinde etkili olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada yapılan morfolojik incelemelerde elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla (Uzuner, 2006), Türkiye Florası'ndaki (Lamond, 1978) ve Avrupa Florası'ndaki (Valentine ve Kress, 1972) bilgilerle genel olarak örtüşmektedir. Ancak bu çalışmada kullanılan birçok özellik Türkiye Florası'nda (Lamond, 1978) eksik olan ve tarafımızdan ilk defa tespit edilip bu alttürleri ayırt etmede kullanılmıştır. Yapılan morfolojik incelmeler neticesinde yaprak alt yüzeyinin tüy durumunun (X_4) alt türlerin ayrılmasında en belirleyici karakter olduğu, korolla renginin (X_8) ise türlerin ayrımında kısmi olarak belirleyici bir karakter olduğu tespit edilmiştir. Çok sayıda örnek üzerinde yapılan morfolojik incelmelerde alttür *vulgaris*' in yaprak alt yüzeyinde orta damarın zemine göre daha oldukça yoğun tüylü, alttür *sibthorpii*' nin ise zemin ve orta damar tüylenmesi aynı yoğunlukta olduğu gözlenmiştir.

Morfolojik verilerin sayısal olarak değerlendirilmesi neticesinde taksonların ayrılmasında kullanılan 8 morfolojik karakterden yaprak boyu (X_2), yaprak eni (X_3) ve bitki boyu (X_1)' nun varyasyona katkısının önemli olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu karakterlerin ekolojik koşullara büyük oranda bağlı olarak değişebilmesi tek başına değil de diğer karakterlerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Alttürlerin ayrılmasında katkısı yüksek olan diğer morfolojik karakterler ise pedisel boyu (X_6) ve çiçek rengi (X_{11}) dir. Diğer çalışılan morfolojik karakterlerin alttürlerin ayrılmasında katkılarının oldukça düşük olduğu bulunmuştur. Uzuner (2006)' in çalışmasında da ölçülen morfolojik karakterlerin *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' ye ait

taksonları gruplandırmada yeterli olmadığı görülmüştür. Shipunov vd. (2011) 'nin çalışmasında da benzer olarak morfolojik karakterlerin bu alttür ayrımı için yeterli olmayacağı, başka karakterlerle mutlaka desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Araştırma bölgesinden toplanan iki taksona ait 18 örneğinin nrDNA ITS bölgeleri çoğaltılmıştır. ITS bölgelerinin uzunluklarının, ITS nükleotit uzunluğundaki % GC içeriğinin ve Pürin / Pirimidin oranının iki alttür arasında ufak farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. ITS bölgeleri arasındaki benzerlik ilişkileri, Pairwise Distance analizi sonucu belirlenmiştir. Dış gruplar hariç tüm taksonların % 98,3–100 arasında benzerlik gösterdikleri belirlenirken, *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* populasyonları kendi içerisinde % 98,3–99 arasında, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* populasyonları % 99,6–100 arasında benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir. Sonuçlardan anlaşıldığı üzere *P. vulgaris*' te baz değişim oranının daha geniştir. Yapılan çalışmalar sonucu taksonlara ait ITS bölgelerinin baz dizinlerinin maksimum parsimoni ağaç topolojileri oluşturulmuştur. Şekil 8' de yer alan MP ağacı incelendiğinde moleküler olarak incelenen populasyon örneklerinin alttür *vulgaris* ve alttür *sibthorpii*'ye karşılık gelen iki grup altında toplandığı görülmektedir. Dış grup olarak seçilen *Primula* cinsine ait diğer tüm taksonlar iki alttür grubunun da dışında kalmıştır. Bu iki takson arasında tespit edilen moleküler benzerlik ilişkileri Uzuner (2006) ve Gültepe vd. (2010)' nin çalışmalarına göre az da olsa farklılıklar göstermektedir. Fakat bu çalışmalarda alttür seviyesinde, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* populasyonlarının bir grup oluşturması beklenirken aynı bölgeden toplandıkları *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* populasyonları ile daha yakın benzerlik gösterdikleri görülmüştür. Bu durum Uzuner (2006) ve Gültepe (2010)' nin çalışmasında kullanılan örnek sayısı ile ilişkili olacağı düşünülmektedir. Çalışmada incelenen tüm populasyonlarda ITS bölgesinde takson içi ve taksonlar arasında herhangi bir delesyon ve insersiyon tespit edilememiştir. Bu sonuç da, Uzuner (2006) ve Gültepe vd. (2010)' nin çalışma sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Çalışma konusunu oluşturan *P. vulgaris*' in seçilen 8 populasyonu % 96 bootstrap değeriyle iki alttüre karşılık iki alt dala ayrılmıştır. Her iki alttür kendi içerisinde tekrar daha küçük, farklı sayıda dallara ayrılmıştır; fakat bootstrap değerleri oldukça düşüktür. Alttür *sibthorpii*' ye karşılık gelen kolda yer alan mor çiçekli PV42 ve PV39 numaralı populasyonların, sarı çiçekli PV34 ve PV23 numaralı populasyonlardan ayrıldıkları görülmektedir. Alttür *vulgaris* kolunda ise beyaz çiçekli PV44 numaralı populasyonun, sarı çiçekli PV28, PV25 ve PV53 numaralı populasyonlardan ayrılarak tek başına bir grup oluşturduğu görülmektedir. Bu durum Karlsson (2002)'un belirtildiğinin aksine renk

özelliklerinin ekolojik şartlara bağılı olarak değişmeyip, moleküler olarak kodlanan bir özellik olabileceğini destekler niteliktedir. Shipunov vd. (2011) de renk özelliklerinin moleküler özelliklerle desteklenmesi gerektiğini düşünmektedir.

P. vulgaris' in iki alttürüne ait 18 populasyondan elde edilen bitki örneklerinin yağ asitleri açısından değerlendirildiğinde çalışılan 31 yağ asidinin büyük bir kısmının yükseklik, renk, alttür ve populasyon içi ve populasyonlar arasında oldukça kararlılık gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 5). Bu nedenle sistematik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan salisilik asit, laurik asit, miristik asit, palmitik asit, stearik asit, araşidik asit ve behenik asitlerin yükseklik ve renge göre populasyon içi ve populasyonlar arası değişimi değerlendirmeye tabi tutulmuştur (Tablo 8-11). Yapılan literatür araştırmaları dikkate alındığında çalışma konusu oluşturan bitki türü üzerinde yağ asidi içeriği açısından herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak bitkilerde yağ asidi içerikleri takson içi ve taksonlar arası ilişkileri ortaya koymada karakteristik bilgi sunduğu iyi bilinmektedir (Bağcı vd., 2004). Akpınar vd. (2001)' nin *Vicia* cinsi üzerinde yaptığı çalışmada yağ asidi profillerinin taksonomik bir veri olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Yine Bağcı vd. (2004), Leguminosae familyasının farklı cinsleri üzerinde yaptığı karşılaştırmalı çalışmada oleik, linoleik ve linolenik asitleri içerdiklerinin türler arasında oldukça değişkenlik gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Aşkın (2008)' in, *Carthamus persicus* Wild. taksonunun farklı bölgelerdeki örnekleri üzerinde yaptığı çalışmada pelargonik, laurik, miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik, linolenik, araşidik ve behenik asitin çiçek ve tohumda bulunma miktarlarının toplandığı bölgelere göre farklı olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada yapılan analizler sonucu Tablo 5'de de görüldüğü üzere her iki alttürde de salisilik asit ve palmitik asit, bireylerdeki yağ içeriğinin yüzde olarak diğerlerinden daha büyük bir kısmını oluşturmaktadır. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* taksonuna ait bireylerde salisilik asit, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonuna ait bitkilerde ise palmitik asit % olarak en yüksek oranda bulunmaktadır. Her iki alttürde de en düşük oranda bulunan yağ asidinin laurik asit olduğu belirlenmiştir. Salisilik asit, laurik asit, araşidik asit alttür *vulgaris*' de alttür *sibthorpii*' ye oranla daha yüksek oranda bulunmaktadır. Miristik asit, palmitik asit ve stearik asitin ise alttür *sibthorpii*' de daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir.

Yağ asidi içeriklerinin alttüre göre, alttürler içinde renk ve yükseltiye göre ve sadece beyaz çiçekli populasyonların kendi içinde alttüre göre değişimim anlamlılık düzeyi SPSS

programında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testi ile karşılaştırılmış ve yağ asitleri yönünden anlamlı farklılıklar olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmada yapılan analizler sonucu alttür, çiçek rengi ve yükseltiye bağlı olarak yağ asidi içeriklerinin değişmediği tespit edilmiştir (Tablo 8-11). Yalnızca laurik asitin alttür *sibthorpii* de çiçek rengine bağlı olarak anlamlı ($P < 0,05$) düzeyde değiştiği bulunmuştur (Tablo 9).

Tablo 8. *P.vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' de yağ asidi içeriği (%) (NS: Önemsiz)

Yağ asitleri	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	P değeri
Salisilik asit	8,17 ± 5,87	5,61 ± 4,9	NS
Laurik asit	0,50 ± 0,32	0,35 ± 0,29	NS
Miristik asit	0,96 ± 0,51	1,56 ± 1,36	NS
Palmitik asit	5,80 ± 2,51	6,20 ± 2,24	NS
Stearik asit	2,62 ± 0,93	3,23 ± 1,14	NS
Araşidik asit	1,13 ± 0,82	0,99 ± 0,39	NS
Behenik asit	0,58 ± 0,63	0,60 ± 0,29	NS

Tablo 9. Farklı çiçek rengine sahip populasyonların yağ asidi içerikleri (%) (NS: Önemsiz)

Yağ asitleri	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>			<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>		
	Sarı	Beyaz	P değeri	Mor	Beyaz	P değeri
Salisilik asit	8,98± 5,71	4,93± 5,16	NS	4,38± 5,08	7,10± 4,48	NS
Laurik asit	0,52± 0,35	0,40± 0,12	NS	0,22± 0,29	0,50± 0,22	<0,05
Miristik asit	0,94± 0,54	1,03± 0,41	NS	1,51± 1,59	1,61± 1,09	NS
Palmitik asit	5,81± 2,63	5,75± 2,27	NS	6,55± 2,43	5,77± 2,04	NS
Stearik asit	2,64± 0,98	2,50± 0,8	NS	3,52± 1,31	2,88± 0,82	NS
Araşidik asit	1,06± 0,9	1,40± 0,29	NS	0,92± 0,44	1,07± 0,33	NS
Behenik asit	0,55± 0,31	0,68± 0,15	NS	0,53± 0,32	0,68± 0,24	NS

Tablo 10. Farklı yükseltlerden toplanan populasyonlarda yağ asidi içerikleri (%) (NS: Önemsiz)

Yağ asitleri	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>			<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>		
	0-500	500-2200	P değeri	0-500	500-2200	P değeri
Yükseklik (m)						
Salisilik asit	10,6± 6,54	7,56± 5,57	NS	5,49± 4,81	5,94± 5,73	NS
Laurik asit	0,58± 0,21	0,48± 0,34	NS	0,36± 0,3	0,30± 0,3	NS
Miristik asit	1,30± 0,55	0,87± 0,48	NS	1,40± 0,87	2,02± 2,4	NS
Palmitik asit	6,53± 1,85	5,61± 2,66	NS	6,33± 2,43	5,80± 1,71	NS
Stearik asit	2,93± 0,68	2,54± 0,99	NS	3,15± 1,16	3,48± 1,15	NS
Araşidik asit	0,78± 0,25	1,21± 0,9	NS	1,01± 0,43	0,92± 0,29	NS
Behenik asit	0,70± 0,18	0,54± 0,31	NS	0,64± 0,28	0,46± 0,29	NS

Tablo 11. Beyaz çiçekli *P.vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* örneklerinde yağ asidi içeriği (%) (NS: Önemsiz)

Yağ asitleri	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	P değeri
Salisilik asit	4,93± 5,16	7,10± 4,48	NS
Laurik asit	0,40± 0,12	0,50± 0,22	NS
Miristik asit	1,03± 0,41	1,61± 1,09	NS
Palmitik asit	5,75± 2,27	5,77± 2,04	NS
Stearik asit	2,50± 0,8	2,88± 0,82	NS
Araşidik asit	1,40± 0,29	1,07± 0,33	NS
Behenik asit	0,68± 0,15	0,68± 0,24	NS

Çalışmaya konu olan alttür *vulgaris* ve alttür *sibthorpii*' nin yayılış gösterdiği alanlardan alınan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal analizi alttür *vulgaris*' in C ve N bakımında daha zengin toprakları tercih ettiğini göstermektedir (Tablo 6,7). Bu da bizlere genel olarak alttür *vulgaris*' in yaşadığı toprakların alttür *sibthorpii*' nin yaşadığı topraklara oranla organik maddece daha zengin olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar ile Hatır-Türken (2003)' in çalışmasında elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Toprak örneklerinin yapısı farklı lokaliteye göre kumlu balçık, balçıklı kil, kumlu kil ve kumlu-killi balçık'a kadar değişiklik göstermektedir. Bu özellikler Jacquemyn vd. (2003)' nin tespitiyle örtüşmektedir. Bu tekstür yapısı alttür düzeyinde değerlendirildiğinde

alttür *sibthorpii* populasyonlarının kumlu-killi toprakları; alttür *vulgaris* populasyonlarının ise kumlu-balçıklı toprakları tercih ettiği tespit edilmiştir.

Toprak örneklerinin makro ve mikro element analizleri yapılarak içermiş olduğu Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn, Mn miktarları ppm seviyesinde belirlenmiştir. Genel olarak alttür *sibthorpii*' nin bulunduğu toprak örneklerinde magnezyum hariç tüm elementlerin miktarının alttür *vulgaris*' in bulunduğu toprak örneklerinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Magnezyumun ise iki taksonun yetiştiği toprak örneklerinde benzer değerlerde bulunduğu tespit edilmiştir.

Toprağın kimyasal ve fiziksel özelliklerinin alttüre göre, alttürler içinde renk ve yükseltiye göre ve sadece beyaz çiçekli populasyonların kendi içinde alttüre göre değişimin anlamlılık düzeyi SPSS programında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testi ile karşılaştırılmış ve toprak özellikleri yönünden anlamlı farklılıklar olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 12. *P.vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin bulunduğu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri (NS: Önemsiz)

	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	<i>P.vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	P Değeri
C (%)	6,07 ± 3,07	4,12 ± 0,91	NS
OM (%)	13,6 ± 6,87	9,87 ± 1,75	NS
N (%)	0,68 ± 0,34	0,49 ± 0,09	NS
Kum (%)	64,3 ± 10,5	60,7 ± 8,22	NS
Kil (%)	22,7 ± 10,6	27,5 ± 6,79	NS
Toz (%)	12,9 ± 2,61	11,8 ± 3,25	NS
Tekstür	Kumlu balçık	Kumlu kil	<0,05
pH	6,42 ± 0,88	6,73 ± 1,07	NS
pH cinsi	Hafif asit	Çok hafif asit	NS
EC (ms/cm)	0,156 ± 0,033	0,181 ± 0,055	NS
TKSM (%)	30,2 ± 5,3	29,4 ± 7,02	NS
SNSM (%)	19,5 ± 4,78	17,1 ± 1,58	NS
FSK (%)	10,7 ± 2,24	12,5 ± 6,21	NS
Ca (ppm)	5953,8 ± 5810	9232,7 ± 6566	NS
Mg (ppm)	529,73 ± 369,5	530,48 ± 75,56	NS
K (ppm)	389,38 ± 191,3	460,90 ± 294,8	NS
Na (ppm)	186,33 ± 66,37	224,54 ± 33,38	NS
Fe (ppm)	13,714 ± 9,035	14,38 ± 18,54	NS
Cu (ppm)	0,3311 ± 0,311	0,41 ± 0,272	NS
Zn (ppm)	1,8604 ± 0,447	2,01 ± 0,385	NS
Mn (ppm)	28,415 ± 10,09	36,39 ± 7,171	NS

Tablo 12' de de görüldüğü üzere, yapılan analizlere göre; toprak tekstürü açısından alttürler arasında $P < 0,05$ önem düzeyinde anlamlı bir fark belirlenirken, diğer toprak özellikleri açısından alttürler arasında önemli bir fark belirlenememiştir.

Tablo 13. Farklı çiçek rengine sahip populasyonların bulunduğu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri (NS: Önemsiz)

Renk	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>		P değeri	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>		P değeri
	Sarı	Beyaz		Mor	Beyaz	
C (%)	6,78 ± 2,89	4,82 ± 3,38	NS	3,88 ± 0,65	4,44 ± 1,25	NS
OM (%)	15,2 ± 4,46	10,8 ± 7,57	NS	9,81 ± 0,95	9,95 ± 2,8	NS
N (%)	0,76 ± 0,32	0,54 ± 0,38	NS	0,49 ± 0,05	0,5 ± 0,14	NS
Kum (%)	65,9 ± 10,6	61,7 ± 11,17	NS	60,3 ± 9,94	61,2 ± 7,32	NS
Kil (%)	21,7 ± 9,28	24,5 ± 14,1	NS	27,9 ± 8,95	26,9 ± 4,17	NS
Toz (%)	12,5 ± 2,47	13,8 ± 3,01	NS	11,8 ± 2,9	11,9 ± 4,36	NS
Tekstür	Kumlu killi balçık	Balçıklı kil	NS	Kumlu kil	Kumlu kil	NS
pH	6,54 ± 0,93	6,23 ± 0,9	NS	6,88 ± 1,18	6,53 ± 1,13	NS
pH cinsi	Hafif asit	Hafif asit	NS	Çok hafif asit	Hafif asit	NS
EC (ms/cm)	0,174 ± 0,027	0,125 ± 0,01	NS	0,186 ± 0,054	0,173 ± 0,067	NS
TKSM (%)	30,2 ± 5,57	30,2 ± 5,62	NS	31,3 ± 9,28	26,8 ± 1,1	NS
SNSM (%)	20,4 ± 5,16	17,9 ± 4,17	NS	17,2 ± 1,21	16,9 ± 2,28	NS
FSK (%)	9,8 ± 2,14	12,3 ± 1,53	<0.05	14,1 ± 8,17	10,3 ± 1,85	NS
Ca (ppm)	7495,7 ± 6897	3255,4 ± 14,56	NS	11568 ± 76,2	6116,8 ± 4144	NS
Mg (ppm)	477,51 ± 115,6	621,12 ± 419	NS	529,48 ± 48,7	531,81 ± 116,4	NS
K (ppm)	418,32 ± 217	338,72 ± 148,7	NS	432,24 ± 2,9	499,11 ± 436	NS
Na (ppm)	194,46 ± 76,88	172,1 ± 49,35	NS	228,83 ± 17,7	218,8 ± 52	NS
Fe (ppm)	12,852 ± 9,83	15,223 ± 8,6	NS	14,511 ± 20,2	14,206 ± 20	NS
Cu (ppm)	0,3195 ± 0,29	0,3514 ± 0,38	NS	0,5112 ± 0,31	0,2851 ± 0,17	NS
Zn (ppm)	1,9755 ± 0,39	1,659 ± 0,52	NS	1,9352 ± 0,35	2,1114 ± 0,48	NS
Mn (ppm)	31,277 ± 10,06	23,406 ± 9,18	NS	37,894 ± 6,31	34,382 ± 9,16	NS

Tablo'13 de görüldüğü gibi, *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*' in sarı ve beyaz çiçek renkli üyeleri arasında sadece faydalanılabilir su kapasitesinde $P < 0,05$ önem düzeyinde anlamlı bir fark belirlenirken, *P vulgaris. subsp. sibthorpii*' nin mor ve beyaz çiçek renkli üyelerinin yaşadığı toprakların özellikleri açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir.

Tablo 14. Çalışılan taksonlarda toprak özelliklerinin yüksekliğe göre değişimi (NS: Önemsiz)

Yükseklik (m)	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>			<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>		
	0-500	500-2200	P değeri	0-500	500-700	P Değeri
C (%)	4,52 ± 0,99	6,41 ± 3,30	NS	4,14 ± 0,88	4,01 ± 1,14	NS
OM (%)	10,1 ± 2,22	14,4 ± 7,39	NS	10 ± 1,97	8,97 ± 1,43	NS
N (%)	0,51 ± 0,11	0,72 ± 0,37	NS	0,5 ± 0,10	0,45 ± 0,07	NS
Kum (%)	59,4 ± 0,07	65,4 ± 11,37	NS	62,5 ± 9,09	49,82 ± 6,07	NS
Kil (%)	28,3 ± 2,76	21,5 ± 11,44	NS	25,8 ± 5,86	37,21 ± 3,93	NS
Toz (%)	12,2 ± 2,83	13,1 ± 2,72	NS	11,6 ± 3,86	12,97 ± 2,31	NS
Tekstür	Kumlu kil	Kumlu balçık	<0.05	Kumlu kil	Balçıklı kil	<0.05
pH	7,51 ± 0,05	6,18 ± 0,79	<0.05	6,6 ± 1,16	7,51 ± 0,03	<0.05
pH cinsi	Hafif alkali	Hafif asit	<0.05	Hafif asit	Hafif alkali	<0.05
EC (ms/cm)	0,202 ± 0,007	0,146 ± 0,03	NS	0,173 ± 0,054	0,227 ± 0,013	NS
TKSM (%)	26,6 ± 0,53	31 ± 5,57	<0.05	26,7 ± 0,70	45,2 ± 10,51	<0.05
SNSM (%)	17,1 ± 1,16	20 ± 5,15	NS	16,8 ± 1,87	18,9 ± 1,38	NS
FSK (%)	9,52 ± 0,63	11 ± 2,41	NS	10,2 ± 1,23	26,3 ± 8,93	<0.05
Ca (ppm)	16187 ± 7548	3679,8 ± 1754	<0.05	8211,5 ± 8248	15353 ± 3195	NS
Mg (ppm)	406,95 ± 12,43	557,02 ± 293,5	NS	535,01 ± 31,37	503,33 ± 52,9	NS
K (ppm)	575,68 ± 415	347,98 ± 116,6	NS	470,49 ± 99,8	403,35 ± 299,3	NS
Na (ppm)	260,12 ± 80,6	169,93 ± 55	NS	228,1 ± 31,6	203,14 ± 26,9	NS
Fe (ppm)	2,9796 ± 1,7	16,1 ± 8,15	<0.05	15,651 ± 22	6,7584 ± 2,6	NS
Cu (ppm)	0,5572 ± 0,13	0,2809 ± 0,32	<0.05	0,4117 ± 0,37	0,43 ± 0,05	NS
Zn (ppm)	1,9763 ± 0,67	1,8346 ± 0,44	NS	2,0326 ± 0,19	1,8793 ± 0,39	NS
Mn (ppm)	40,847 ± 1,32	25,652 ± 8,94	<0.05	35,647 ± 8,57	40,841 ± 0,65	NS

Tablo 14' de verilen değerler incelendiğinde görüldüğü gibi 0-500 m ve 500-2200 m de yaşayan popülasyonlarının tercih ettiği topraklar arasında takson içi seviyede içerik bakımından $P < 0,05$ önem düzeyinde anlamlı bazı farklar tespit edilmiştir. Alttür *vulgaris*'in toprak tekstürü, pH değerleri, pH cinsi % TKSM ve Ca, Fe, Cu, Mn elementlerinin miktarları açısından $P < 0,05$ önem düzeyinde anlamlı bir fark belirlenmiştir. Benzer şekilde alttür *sibthorpii*' nin toprak tekstürü, pH değerleri, pH cinsi, % TKSM, % FSK değerleri $P < 0,05$ önem düzeyinde farklı bulunmuştur. Ancak Tablo 14 incelendiğinde anlamlı olduğu tespit edilen bazı parametrelerin aldığı değerler sayısal olarak birbirinden çok farklı olduğu gözlenmektedir. Bu durum yapılan analizlerdeki tekrar sayısının azlığından ileri gelebilir. Bu nedenle ileride yapılacak kapsamlı örneklemelemlerle bu durumun desteklenmesi gerekir.

Tablo 15. Beyaz çiçekli *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' ye ait toprak özellikleri (NS: Önemsiz)

	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	P değeri
C (%)	4,82 ± 3,38	4,44 ± 1,25	NS
OM (%)	10,8 ± 7,57	9,95 ± 2,8	NS
N (%)	0,54 ± 0,38	0,5 ± 0,14	NS
Kum (%)	61,7 ± 11,17	61,2 ± 7,32	NS
Kil (%)	24,5 ± 14,1	26,9 ± 4,17	NS
Toz (%)	13,8 ± 3,01	11,9 ± 4,36	NS
Tekstür	Balçıklı kil	Kumlu kil	NS
pH	6,23 ± 0,9	6,53 ± 1,13	NS
pHcinsi	Hafif asit	Hafif asit	NS
EC (ms/cm)	0,125 ± 0,01	0,173 ± 0,067	NS
TKSM (%)	30,2 ± 5,62	26,8 ± 1,1	NS
SNSM (%)	17,9 ± 4,17	16,9 ± 2,28	NS
FSK (%)	12,3 ± 1,53	10,3 ± 1,85	NS
Ca (ppm)	3255,4 ± 14,56	6116,8 ± 4144	NS
Mg (ppm)	621,12 ± 419	531,81 ± 116,4	NS
K (ppm)	338,72 ± 148,7	499,11 ± 436	NS
Na (ppm)	172,1 ± 49,35	218,8 ± 52	NS
Fe (ppm)	15,223 ± 8,6	14,206 ± 20	NS
Cu (ppm)	0,3514 ± 0,38	0,2851 ± 0,17	NS
Zn (ppm)	1,659 ± 0,52	2,1114 ± 0,48	NS
Mn (ppm)	23,406 ± 9,18	34,382 ± 9,16	NS

Tablo 15'te de görüldüğü gibi, sadece beyaz çiçekli populasyonlarda üyeleri ile yapılan karşılaştırmada iki alttür arasında toprak özellikleri açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir.

pH değerlerinin değişim aralığının alttür *vulgaris* için 5,32-7,55 arasında, alttür *sibthorpii* için 5,11-7,51 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Hatır-Türken (2003)' in yaptığı çalışma ise, pH değişim aralığı alttür *vulgaris* için 4,85-6,68, alttür *sibthorpii* için ise 5,2-7,62 olduğu tespit edilerek alttür *sibthorpii*' nin pH değişimine toleransının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu bakımdan çalışma sonuçlarımızı desteklememektedir. Bu farklılığın çalışmada kullandığımız toprak örneklerinin alındığı noktaların benzer ekolojik şartlara sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Alttürlere ait populasyonların pH değerlerinin ortalama değerleri dikkate alındığında pH değerlerinin alttür *sibthorpii*' de 6,7, alttür *vulgaris*' de 6,4 olup alttürler arasında önemli bir varyasyon olmadığı gözlenmiştir. Elde edilen bu veriler her iki alttürde tespit edilen çiçek renk değişiminin nedeninin pH ya bağlanmayacağı ancak bunun yükseklikle birlikte değişen sıcaklığa bağlı olabileceği veya genetik olarak tespit edildiğini göstermektedir. Bu sonuç Shipunov vd. (2011)' nin çalışmasıyla da desteklenmektedir. Shipunov vd. (2011) yaptığı çalışmada pH değerlerinin renk özellikleriyle ilişkili olmadığını rapor etmiştir.

Verilerden anlaşıldığı üzere pH değerleri alttür arasında ve alttür içi renk bazında değişmeyip, alttür içinde yükselti bazında anlamlı düzeyde bir değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Yukarıda da geniş olarak tartışıldığı üzere *P. vulgaris*'in ülkemizde yayılış gösteren ve morfolojik olarak birbirine oldukça benzeyen iki alttür arasında nrDNA ITS bölgeleri açısından çok düşük düzeyde de olsa tespit edilen farklar, MP analizinde çalışılan populasyonların alttür düzeyinde ayırmıştır. Bu ayırım morfolojik verilere dayalı olarak elde edilen dendrogram ile benzerlik göstermiştir. Ancak moleküler düzeyde bu ayırımın daha net şekilde ortaya koyulabilmesi için daha farklı ekolojik koşullarda ve alanlardan toplanan örneklerin ve daha fazla gen veya bölgenin karşılaştırmalı şekilde ele alınması gerekir.

Ancak hem takson içi hem de taksonlar arası yağ asidi profilleri ve toprak özellikleri açısından anlamlı sayılabilecek farklılık tespit edilememiştir. Ayrıca doğal olarak bir arada yaşayan çiçek rengi açısından geniş bir polimorfizm gösteren bu taksonlarda gözlenen çiçek rengi değişimlerinin toprak özellikleri yükselti ve yağ asidi içeriklerine göre de değişmediği de tespit edilmiştir. Bu durum *P. vulgaris*' in taksonlarında gözlemlenen renk polimorfizminin yalnızca belli bir faktöre bağlı olarak açıklanamayacağı bitkinin genomuna ve ekolojik faktörlere bağlı olabileceğini göstermektedir. Ancak bunun kesin olarak ortaya konması daha fazla sayıda moleküler markır ve daha fazla sayıda populasyon örneğinin ele alınıp değerlendirilmesiyle mümkün olabilir. Ayrıca morfolojik, moleküler, kimyasal ve ekolojik özelliklerde tespit edilen yüksek benzerlik oranları ve aynı ortamda her iki alttüre ait örneğin bulunması bu iki taksonun varyete olarak değerlendirilme ihtimalini de güçlendirmektedir. Ancak bu durum yalnızca ülkemiz örnekleri ile değil, *P. vulgaris*' in yayılış gösterdiği alanlardan elde edilecek verilerle desteklenmesi gerekir. Buna benzer bir düşünce Shipunov vd. (2011)' nin çalışmasında da ortaya konmuştur.

5. SONUÇLAR

Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren *Primula vulgaris* Huds.'un iki alttürüne ait çok sayıda populasyon örneği morfolojik, moleküler, yağ asidi ve toprak özellikleri yönünden ilk kez incelenmiştir. Elde edilen morfolojik sonuçlar nümerik taksonomik yönden incelenirken, yağ asidi ve toprak özelliklerine ait veriler istatistiki yönden değerlendirilmiştir. Yapılan literatür taramalarında *P. vulgaris*' in alttürleri olan *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P.vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonları üzerinde benzer bir çalışma yapılmadığı anlaşılmıştır.

Yapılan çalışmalarla alttür *sibthorpii*' nin yayılış gösterdiği yükselti aralığı 0-700 m olarak belirlenirken, alttür *vulgaris*' in 200-2200m aralığında bulunabildiği tespit edilmiştir. 200-700 m yükselti aralığında her iki taksonun birlikte yayılış gösterdiği bulunmuştur. Sarı ve açık yeşil arası renk yelpazesine sahip çiçekler alttür *vulgaris*, mor, pembe ve lila arası renk yelpazesine sahip çiçekler alttür *sibthorpii* olarak adlandırılırken, beyaz ve krem renkli çiçeklere sahip bireyler her iki taksonda da bulunmaktadır.

Yapılan morfolojik incelemeler sonucunda iki alttür için en ayırıcı morfolojik karakterin yaprak alt yüzeyi tüylenme durumu olduğu bulunmuştur. Morfolojik ölçümlerin sayısal değerlendirilmesi sonucu taksonların ayırımında en etkili olan karakterlerin ise bitki boyu, yaprak boyu ve eni olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu karakterlerin ekolojik şartların etkisi altında değişebileceği bilindiğinden diğer karakterlerle birlikte karşılaştırmalı şekilde kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Taksonlara ait nrDNA ITS bölgesi dizinlerinin uzunluğunun, alttür *vulgaris* için 708-713 bp; alttür *sibthorpii* için 711-716 bp arasında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışılan tüm taksonların % 98,3–100 oranında benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. ITS dizin analizleri sonucunda elde edilen MP ağacında taksonların alttür *vulgaris* ve alttür *sibthorpii* ye karşılık gelen iki grup altında toplandığı görülmüştür.

Alttür *sibthorpii* taksonunun yağ asidi profilinde en yüksek oranda bulunan yağ asidinin bitkilerde yaygın olarak bulunan yağ asitlerinden palmitik asit, alttür *vulgaris* de ise salisilik asit olduğu görülmüştür. Her iki taksonun da yağ asidi profillerinde en az oranda laurik asite rastlanmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucu yağ asidi profilleri açısından iki alttürün yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan toprak analizleri neticesinde alttür *vulgaris*' in daha asidik ve kumlu-balçık özelliği gösteren, C, N ve organik maddece daha zengin, alttür *sibthorpii*' nin ise daha alkali ve kumlu-kil özelliği gösteren topraklarda yaşadığı belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu Toprak pH özelliklerinin ise taksonlar arası değişmeyip takson içi yükseklik açısından anlamlı bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmaya konu olan *P. vulgaris* türü' nün iki alttürü aynı coğrafik alanda, çakışan yükselti aralığında ve benzer çiçek rengine sahip bireyleriyle bir arada yaşamaktadır. Birlikte yaşadıkları ortamlarda doğal hibritlerinin de olması bu iki alttürün sistematik olarak ayırımında birtakım sıkıntılar doğurmaktadır. Bu çalışma ile taksonomik ayırımında birtakım problemler yaşanan *Primula vulgaris* Huds. taksonunun alttürleri olan *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* ve *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin belirlenen tek bir güzergahta farklı yükselti aralıklarıyla toplanan çok sayıda populasyonu morfolojik, moleküler, yağ asidi ve toprak özellikleri yönünden değerlendirilmiştir.

Benzer şekilde Doğu Karadeniz Bölgesi' nin tamamından, farklı güzergahlarda elde edilecek çok sayıda populasyon örneği üzerinde yapılacak analizlerle iki alttürün taksonomik problemine daha büyük ölçüde katkıda bulunulabilir. Ayrıca yapılan çalışmalara ek olarak palinolojik, karyolojik ve fizyolojik yönden de incelenerek, bu yöndeki benzerlik ya da farklılıklarının belirlenmesi ve elektron mikroskobu ile tohum yüzey morfolojilerinin incelenmesi bu iki taksonun sistematik probleminin çözümüne önemli ölçüde katkı sağlayacaktır. Taksonun renk polimorfizmi daha kapsamlı şekilde değerlendirilerek, sahip olduğu her renk tonu için bireyler moleküler, morfolojik, ekolojik ve kimyasal özellikleri açısından değerlendirilebilir. Böylece renk polimorfizminin altında yatan gerçek nedenlerin bulunmasına katkı sağlanabilir.

P. vulgaris türü alttür ayırımı açısından sorun teşkil eden bir taksondur. Farklı bölgelerden elde edilecek çoklu populasyonlar üzerinde, bahsedilen tüm bu analizler ve ayrıntılı moleküler çalışmaların yapılmasıyla elde edilecek sonuçlar doğrultusunda alttür olarak adlandırılan bu iki taksonun gerçekte alttür olup olmadığı ile ilgili şüpheler aydınlatılmış olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Adıgüzel, A., Ağar, G., Barış, O., Güllüce, M., Sahin, F. ve şengül, M., 2006. RAPD and FAME Analyses of Astragalus Species Growing in Eastern Anatolia Region of Turkey, Biochemical Systematics and Ecology, 34, 424-432.
- Aitzetmuller, K., 1993. Capillary GLC Fatty Acid Fingerprints of Seed Lipids - A Tool in Plant Chemotaxonomy, Journal of High Resolution Chromatography, 16, 488-490.
- Aitzetmuller, K. ve Tsevegsüren N., 1994. Seed Fatty Acids, “Front – End” Desaturases and Chemotaxonomy - A Case Study in the Ranunculaceae, Journal of Plant Physiology, 143, 538-543.
- Akpınar, N., Akpınar M., A. ve Türkoğlu S., 2001. Total Lipid Content and Fatty Acid Composition of the Seeds of Some *Vicia* L. species, Food Chemistry, 74, 4, 449-453.
- Aşkın, Y., 2008. Aspir (*Carthamus persicus* Wild) Bitkisinin Yağ Asidi Bileşiminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, F.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Aygün, F., 2006. *Vicia canescens* Populasyonları Arasındaki Varyasyonun RAPD ve FAMEs ile Analizi. Yüksek Lisans Tezi, A. Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bağcı, E., Bruehl L., Aitzetmuller K. ve Altan Y., 2003. Fatty Acid and Tocochromanol Patterns of some Turkish Boraginaceae, Nordic Journal of Botany, 22, 6, 719-726.
- Bağcı, E., Bruehl, L., Özçelik, H., Aitzetmuller, K., Vural, M. ve şahin, A., 2004. A study of the fatty acid tocochromanol patterns of some Fabaceae (Leguminosae) plants from Turkey I, Grasses y Aceites, 55, 4, 378-384
- Baldwin, B., G., Kyhos, D., V. ve Dvorak, J., 1990. Chloroplast DNA Evolution and Adaptive Radiation in the Hawaiian *Silversword alliance* (Asteraceae), Annual Botanical Garden, 77, 96 - 109.
- Baldwin, B., G., 1992. Phylogenetic Utility of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: An Example from the Compositae. Molecular Phylogeny Evolution, 1, 3 - 16.
- Baldwin, B., G., Sanderson, M., J., Porter, J., M., Wojciechowoski, M., F., Campell, C., S. ve Donoghue, M., J., 1995. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny, Annals of the Missouri Botanical Garden, 82, 2, 247-277.

- Baldwin, B., G., ve Markos, S., 1998. Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: Congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae), Molecular Phylogeny Evolution, 10, 449 - 463.
- Baumann, H., Bühler M., Fochem H., Hirsinger F., Zoebelin H. ve Falbe J., 1988. Natural Fats and Oils — Renewable Raw Materials for the Chemical Industry, Angewandte Chemie International Edition, 27, 1, 41 – 62.
- Beyazoğlu, A., 1989. Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi' nde Yayılış Gösteren Bazı Primulaceae Taksonları Üzerinde Anatomik Çalışmalar, Turkish Journal of Botany, 3, 3 - 16.
- Boyd, M., Silvertown, J. ve Tucker, C., 1990. Population Ecology of Heterostyle and Homostyle *Primula vulgaris*: Growth, Survival and Reproduction in Field Populations, Journal of Ecology, 78, 799-813.
- Bremer, B., Jansen, R., K., Oxelman, B., Lantz, H. ve Kim, K., J., 1999. More Characters of More taxa for A Robust Phyogeny, Case Study From the Coffee Family (Rubiaceae), Systematic Biology, 48, 413 - 435.
- Brown, D., 1995. Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London, UK.
- Brummitt, R., K., 1993. The Correct Latin Names for the Primrose and Oxlip, *Primula vulgaris* Hudson and *P. elatior* (L.) Hill. Watsonia, 19, 181 - 184.
- Bruun, H., G., 1932. Cytological Studies in *Primula*, with Special Reference to the Relation between the Karyology and Taxonomy of the Genus, Symbolae Botanicae Upsalienses, 1, 1-239.
- Brys, R., Jacquemyn, H., Endels, P., Van Rossum, F., Hermy, M., Triest, L., De Bruyn, L. ve Blust, G., D., E., 2004. Reduced Reproductive Success in Small Populations of the Self incompatible *Primula vulgaris*, Journal of Ecology, 92, 5-14.
- Brys, R., Jacquemyn, H., De Bruyn, L. ve Hermy, M., 2007. Pollination Success and Reproductive Output in Experimental Populations of the Self-incompatible *Primula vulgaris*, International Journal of Plant Sciences, 168, 5, 571-578.
- Campagne, P., Affre, L., Baumel, A., Roche, P. ve Tatoni, T., 2009a. Fine-scale Response to Landscape Structure in *Primula vulgaris* Huds.: Does Hedgerow Network Connectedness Ensure Connectivity through Gene Flow?, Population Ecology 51, 209-219.
- Campagne, P., Baumel, A., Affre, L., Juin, M., Duong, N., Roche, P. ve Tatoni, T., 2009b. Genetic Signs of Connectivity in *Primula vulgaris* (Primulaceae) in a Hedgerow Network Landscape, Comptes Rendus Biologies, 332, 652-661.

- Castroviejo, S., Aedo, C., Lainz, M., Morales, R., Muñoz Garmendia, F., Nieto Feliner, G. ve Paiva, J., 1997. In: Flora Iberica, Ebenaceae-Saxifragaceae, Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, Spain, 5, 10 - 22
- Clifford, H., T., 1958. Studies in British Primulas. VI. On Introgression between Primrose (*Primula vulgaris* Huds.), New Phytologist, 57, 1, 1 - 10
- Conti, E., Suring, E., Boyd D., Jorgensen, J., Grant J. ve Kelso, S., 2000. Phylogenetic Relationships and Character Evolution in *Primula* L. : the Usefulness of ITS Sequence Data, Plant Biosystems, 134, 385 - 392.
- Coskunçelebi, K., Terzioğlu, S., Türkmen, Z., Makbul, S. ve Usta, A., 2008. A Comparative Study on two Closely Relative *Tulipa* L. taxa from NE Anatolia. Plant Systematics and Evolution, 272, 191 - 198.
- Curtis, J. ve Curtis, C., F., 1985. Homostyl Primroses re-visited. I. Variation in time and space, Heredity, 54, 227 - 234.
- Dinç, M., 2001. *Lathyrus boissieri* Sirj. ve *Lathyrus laxiflorus* subsp. *laxiflorus* (Desf.) O. Kuntz'un Yag Asidi Bileşenleri Bakımından Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, F. Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Doyle, J., J. ve Doyle, J., L., 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue, Phytochemical Bulletin, 19, 11 - 15.
- Ehrlén, J. ve Lehtilä, K., 2002. How Perennial are Perennial Plants? Oikos, 98, 308-322.
- Endels, P., Jacquemeyn, H., Brys, R., Hermy, M. ve De Blust, G., 2002. Temporal changes (1986-1999) in Populations of Primrose (*Primula vulgaris* Huds.) in an Agricultural Landscape and Implications for Conservation, Biological Conservation, 105, 11-25.
- Endels, P., Jacquemeyn, H., Brys, R. ve Hermy, M., 2004. Impact of Management and Habitat on Demographic Traits of *Primula vulgaris* in an Agricultural Landscape, Applied Vegetation Science, 7, 171 - 182.
- Endels, P., Jacquemeyn, H., Brys, R. ve Hermy, M., 2007. Genetic Erosion Explains Deviation from Demographic Response to Disturbance and Year Variation in Relic Populations of the Perennial *Primula vulgaris*. Journal of Ecology, 95, 960-972.
- Fargue-Lelièvre, A., Le Coeur, D. ve Baudry J., 2011. Integrating Farming Techniques in an Ecological Matrix Model: Implementation on the Primrose (*Primula vulgaris*), Ecological Modelling, 222, 1002-1015.
- Fedorov, An., A., 1967. *Primula* L. In: Shishkin, B., K. ve Bobrov, E., G., Eds., Flora of USSR. 18, 86-151.

- Felsenstein, J., 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap, Evolution, 39, 783 - 791.
- Goffman, F., D., Thies W. ve Velasco L., 1999. Chemotaxonomic Value of Tocopherols in Brassicaceae, Phytochemistry, 50, 793 - 798.
- Gökmen, S., 2007. Genel Ekoloji, Nobel Yayın Evi. Yayın No: 1160, Ankara, 475 s.
- Graybeal, A., 1998. Is it Better to Add Taxa or Characters to A Difficult Phlogenetic Problem? Systematic Biology, 47, 9 - 17.
- Grela, E., R. ve Gunter K., D., 1995. Fatty Acid Composition and Tocopherol Content of Some Legume seeds, Animal Feed Science and Technology, 52, 325-331.
- Grieve, M., 1931. A Modern Herbal, Harcourt, Brace & Company, New York, USA.
- Gülçür, F. 1974. Toprağın Fiziksel ve Kimyasal Analiz Metodları, İ. Ü. Yayınları, Yay. No:1970, Orm. Fak. Yay. No:201, Kurtuluş Matbaası, İstanbul.
- Gültepe, M., 2007. Kuzey Anadolu Bölgesi'nde Dogal Olarak Yayılış Gösteren Bazı *Hieracium* L. (Asteraceae) Taksonlarının nrDNA ITS Bölgeleri Bakımından Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Gültepe, M., Uzuner, U., Coşkunçelebi, K., Beldüz, A., O. ve Terzioğlu, S., 2010. ITS (Internal Transcribed Spacer) Polymorphism in the Wild *Primula* L. (Primulaceae) taxa of Turkey, Turkish Journal of Botany, 34, 147-157.
- Haldane, J., B., S., 1938. Heterostylism in Natural Populations of the Primrose, *Primula acaulis*, Biometrika Trust, 30, 1/2, 196-198.
- Hall, T., A., 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/-98/NT, Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98.
- Hatır-Türken, Y., 2003. *Primula vulgaris* Huds.'un (Primulaceae) İki Alttürünün Fenotipik Plastisitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, O.M.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Hayırlıoğlu-Ayaz, S. ve İnceer, H., 2003. Chromosome Counts of Some *Primula* L. Species (Primulaceae), Biologia, 58, 1, 45 - 48.
- Hegi, G., 1975. In: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Dicotyledons (Pirulaceae-Verbenaceae), Second Edition, P. Parey, Berlin, Germany, 5, 3.
- Howells, R., H., Brim, C., A. ve Rinne, R., H., 1972. The Plant Geneticists Contribution Towards Changing Lipid and Amino Acid Composition of Soybeans. Journal of American Oil Chemists Society, 49, 30-32.

- Irmak, A., 1974. Arazide ve Laboratuvarında Toprağın Araştırılması Metodları, İ.Ü. Yayınları, Yayın No:599, Orman Fakültesi Yayın No:27, İstanbul.
- Jacquemyn, H., Van Rossum, F., Brys, R., Endels, P., Hermy, M., Triest, L. ve De Blust, G., 2003. Effects Of Agricultural Land Use and Fragmentation on Genetics, Demography and Population Persistence of the Rare *Primula vulgaris*, and Implications for Conservation, Belgian Journal of Botany, 136, 1, 5-22.
- Jacquemyn, H., Endels, P., Brys, R. ve Woodell, S., R., J., 2009. Biological Flora of the British Isles: *Primula vulgaris* Huds. (*P. acaulis* (L.) Hill), Journal of Ecology, 97, 812-833.
- Kabata, B. ve Pendias, H., 2001. Trace Elements in Soil and Plants, CRC Pres, New York, 1-30.
- Kacar, B. ve Katkat, A.,V., 2006. Bitki Besleme, Nobel Yayın Evi, Yayın No: 849, Ankara, 595 s.
- Kálmán, K., Medvegy, A. ve Mihalik, E., 2004. Pattern of the Floral Variation in the Hybrid Zone of two Distylous *Primula* species, Flora, 199, 218-227.
- Kantarıcı, M., D., 1979. Aladağ Kütlesinin (Bolu) Kuzey Aklanındaki Uludağ Göknarı Ormanlarındaki Yükselti-İklim Basamaklarına Göre Bazı Ölü Örtü Toprak Özelliklerinin Analitik Olarak Araştırılması, İ.Ü. Yayınları, Yayın No: 2634, Orman Fak. Yayın No: 274, İstanbul.
- Kantarıcı, M., D., 2000. Toprak İlimi, İ.Ü. Yayınları, Yayın No: 4261, Orm. Fak. Yay. No:462, İstanbul.
- Karlsson, M., G., 2002. Flower Formation in *Primula vulgaris* is Affected by Temperature, Photoperiod and Daily Light İntegral, Scientia Horticulturae, 95, 99-110.
- Kosenkova, Yu., S., Polovinka, M., P., Komarova, N., I., Korchagina, D., V., Morozov, S., V., Vyalkov, A., I., Kurochkina, N., Yu., Cheremushkina, V., A. ve Salakhutdinov, N., F., 2008. Fatty-Acid Composition and Secondary Metabolites From Slightly Polar Extracts of The Aerial Part of *Primula macrocalyx*, Chemistry of Natural Compounds, 44, 5, 564-568.
- Lamond, J., 1978. In: Davis, P. H., Ed., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 6, 112 - 120.
- Leblebici, S., 2011. Kütahya ve Eskişehir’de Yayılış Gösteren Endemik *Stachys* sp. Türleri Üzerine Anatomik ve Ekolojik İncelemeler, Doktora Tezi, D.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Li, J., Webster, M., A., Matthew, C., Gilmartin. S. ve Gilmartin, P., M., 2011, Floral Heteromorphy in *Primula vulgaris*: Progress towards İsolation and Characterization of the S locus, Annals of Botany, 108, 715-726.

- Löve, A. ve Löve, D., 1961. Chromosome Numbers of Central and Northwest European Plant Species, Opera Botanica, 5, 581s
- Lux, A. ve Luxová, M., 2003. Growth and Differentiation of Root Endodermis in *Primula acaulis* Jack., Biologia Plantarum, 47, 1, 91-97
- Marsden-Jones, E., M. ve Turril, W., B., 1944. Experiments on Colour and Heterostyly in the Primrose, *Primula vulgaris* Huds. New Phytologist, 43, 2, 130-134.
- Martins, L., Oberprieler C. ve Hellwig, F. H., 2003. A Phylogenetic Analysis of Primulaceae s.l. Based on Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA Sequence Data. Plant Systematics and Evolution, 237, 75-85.
- Mast, A., R., Kelso, S., Richards, J., Lang, D., J., Feller, D., M., S., Conti, E., 2001. Phylogenetic Relationships in *Primula* L. and Related Genera (Primulaceae) Based on Noncoding Chloroplast DNA, International Journal of Plant Sciences, 162, 6, 1381 - 1400.
- McCubbin, A., G., Lee, C. ve Hetrick, A., 2006. Identification of Genes Showing Differential Expression Between Morphs in Developing Flowers of *Primula vulgaris*, Sexual Plant Reproduction, 19, 63-72.
- Menfield, I., W., Pavlov, V., K., Li, J., Cook, H., E., Hummel, F. ve Gilmartin P., M., 2005. Molecular Characterization of DNA Sequences from the *Primula vulgaris* S-locus, Journal of Experimental Botany, 56, 414, 1177-1188.
- Mizuhiro, M., Ito, K. ve Mii, M., 2001. Production and Characterization of Interspecific Somatic Hybrids between *Primula malacoides* and *P. obconica*, Plant Science, 161, 489 - 496.
- Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacombez, C., Chavent, M., Cassagne, C. ve Bessoule, J-J., 2001. Taxonomy of Gymnospermae: Multivariate Analyses of Leaf Fatty Acid Composition. Phytochemistry, 58, 101-115
- Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacombez, C., Chavent, M. ve Bessoule, J-J., 2005. Chemotaxonomy of the Rubiaceae Family Based on Leaf Fatty Acid Composition, Phytochemistry, 66, 549-559
- Mummenhoff, K., Franzke, A. ve Koch, M., 1997. Molecular Phylogenetic of *Thlaspi* s.l. (Brassicaceae) Based on Chloroplast DNA Restriction Site Variation and Sequences of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA. Canadian Journal of Botany, 75, 3, 469-487.
- Murray, R., K., Mayes, P., A., Granner, D., K. ve Rodwell V., W., 1990. Harper' in *Biyokimyası*, G. Menteş, Barış Kitabevi. İstanbul.
- Noyes, R., D., 2006. Intraspecific Nuclear Ribosomal DNA Divergence and Reticulation in Sexual Diploid *Erigeron strigosus* (Asteraceae). American Journal of Botany, 93, 470-479.

- Oliveira da Silva, A., C., Morais de Oliveira, A., F., Alves Cursino dos Santos, D., Y. ve Izídio da Silva, S., 2010. An Approach to Chemotaxonomy to the Fatty Acid Content of Some Malvaceae Species, Biochemical Systematics and Ecology, 38, 1035-1038.
- Özyuvacı, N., 1978. Kocaeli Yarımadası Topraklarında Erozyon Eğiliminin Hidrolojik Toprak Özelliklerine Bağlı Olarak Değişimi, İ.Ü. Orman Fak. Yayınları, Yayın No: 233, İstanbul.
- Paisley, R., 1995. MIS Whole Cell Fatty Acid Analysis by Gas Chromatography. MIDI, Inc., Newark, DE, USA.
- Pınar, N., M., Doğan, D., Akgül, G. ve Geven, F., 2005. The Pollen Morphology of the Wild *Primula* L. (Primulaceae) Species in Turkey, XVII International Botanical Congress Vienna, Austria, Europe, 327 s.
- Prajapati, D., N., Knox, J., F., Emmons, J., Saeian, K., Csuka, M., E. ve Binion, D., G., 2003. Leflunomide Treatment of Crohn's Disease Patients Intolerant to Standard Immunomodulator Therapy, Journal of Clinical Gastroenterology, 37, 125 - 133.
- Richards, J., 2003. *Primula*, Second Edition, Timber Press, Portland, Oregon.
- Saitou, N. ve Nei, M., 1987. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. Molecular Biology and Evolution, 4, 406 - 425.
- Sang, T., Crawford, D., J. ve Stuessy T., F., 1997. Chloroplast DNA Phylogeny, Reticulate Evolution, and Biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae), American Journal Botany, 84, 1120 - 1136.
- Sayanova, O., V., Beaudoin, F., Michaelson, L. V., Shewry, P. R. ve Naiper, J. N., 2003. Identification of *Primula* fatty acid Δ^6 -desaturases with *n*-3 substrate preferences, FEBS Letters, 542, 100-104
- Selander, C., S., ve Welander, N., T., 1984. Effect of Temperature on Flowering in *Primula vulgaris*, Scientia Horticulturae, 23: 195-200.
- Shipunov, A., Kosenko, Y. ve Volkova, P., 2011. Floral Polymorphism in Common Primrose (*Primula vulgaris* Huds., Primulaceae) of the Northeastern Black Sea Coast, Plant Systematics and Evolution, 296, 167-178
- Smouse, T., M. ve Chang S., S., 1967. A Systematic Characterisation of the Reversion Flavour of Soybean Oil, Journal of American Oil Chemists Society, 44, 509.
- Spitzer, V., Marx F., Maia, J., G., S., ve Pfeilsticker, K., 1990. *Curupira tefeensis* (Olacaceae) — A Rich Source of Very Long Chain Fatty Acids, European Journal of Lipid Science and Technology, 92, 4, 165-168.

- Taberlet, P., Gielly L., Pautou G. ve Bouvet J., 1991. Universal Primers for Amplification Three Non-coding Regions of Chloroplast DNA, Plant Molecular Biology, 17, 1105 - 1109.
- Tamura, K., Dudley J., Nei, M. ve Kumar, S., 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Molecular Biology and Evolution, 24, 1596-1599
- Terzioğlu, S., Coşkunçelebi, K. ve Gültepe, M., 2011. *Primula* × *uzungolensis* (Primulaceae): A New Natural Hybrid from NE Anatolia, Turkish Journal of Botany, 36, 9-19.
- URL-1, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore?term=Primula%20internal%20transcribed%20spacer>, 20.04.2012
- Uzuner, U., 2006. Kuzey Anadolu Doğal *Primula* L. (Primulaceae) Taksonlarının nrDNA ITS Bölgeleri Bakımından Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ünal, M., Yentür, S., Cevahir, G., Sardağ, M. ve Kösesakal, T., 2003. Physiological and Anatomical Investigation of Flower Colors of *Primula vulgaris* L., Biotechnology & Biotechnological Equipment., 102-108.
- Valdés, A. ve García, D., 2009. Applying a Continua Landscape Approach to Evaluate Plant Response to Fragmentation: *Primula vulgaris* in the Cantabrian Mountains, Applied Vegetation Science, 12, 504-515.
- Valentine, D., H., 1947. Studies in British Primulas. I. Hybridization Between Primrose and Oxlip (*Primula vulgaris* Huds. and *P. elatior* Schreb.), New Phytologist, 46, 2, 229-253.
- Valentine, D., H., 1948. Studies in British Primulas - II. Ecology and Taxonomy of Primrose and Oxlip (*Primula vulgaris* Huds. and *P. elatior* Schreb.). New Phytologist, 47, 111-130.
- Valentine, D., H., 1955. Studies in British Primulas. IV. Hybridization Between *Primula vulgaris* Huds. and *P. veris* L., New Phytologist, 54,1, 70-80.
- Valentine, D., H. ve Kress, A., 1972. *Primula* L. In: Tutin, T., G., Heywood, V., H., Burges, N., A., Moore, D., M., Valentine, D., H., Walters, S., M. ve Webb, D., A., Eds., Flora Europaea, Cambridge University Press, Cambridge, 3, 15-20.
- Van Geert, A., Van Rossum, F., Stiers, I., Sierens, T., Barker, J. H. A. ve Triest, L., 2006. Isolation and Characterization of Microsatellite Loci in Primrose (*Primula vulgaris*), Belgian Journal of Botany, 139, 2, 261-264.
- Van Geert, A., Van Rossum, F. ve Triest, L., 2008. Genetic Diversity in Adult and Seedling Populations of *Primula vulgaris* in a Fragmented Agricultural Landscape, Conservation Genetics, 9, 845-853.

- Wardill, T., J., Graham, G., C., Zalucki, M., Palmer, W., A., Playford, J. ve Scott, K., D., 2005. The importance of Species Identity in the Biocontrol Process: Identifying the Subspecies of *Acacia nilotica* (Leguminosae: Mimosoidae) by Genetic Distance and the Implications for Biological Control, Journal of Biogeography, 32, 2145-2159.
- Webster, M., A. ve Grant, C., J., 1990. The Inheritance of Calyx Morph Variants in *Primula vulgaris* (Huds.). Heredity, 64, 121-124.
- Webster, M., A. ve Gilmartin, P., M., 2006. Analysis of Late Stage Flower Development in *Primula vulgaris* Reveals Novel Differences in Cell Morphology and Temporal Aspects of Floral Heteromorphy, New Phytologist, 171, 591-603.
- Whale, D., M., 1983a. The Response of *Primula* Species to Soil Waterlogging and Soil Drought, Oecologia, 58, 272-277.
- Whale, D., M., 1983b. Seasonal Variation in the Gas Exchange Characteristics of *Primula* species, Oecologia, 59, 377-383.
- Whale, D., M., 1984. Habitat Requirements in *Primula* Species. New Phytologist, 97, 665-679.
- Wolff, R., L., Deluc, L., G., Marpeau, A., M. ve Comp, B., 1997. Chemotaxonomic Differentiation of Conifer Families and Genera Based on the Seed Oil Fatty Acid Compositions: Multivariate Analyses, Trees, 12, 57-65
- Woodell, S., R., J., 1960. Studies in British Primulas. VII. Development of Normal Seed and of Hybrid Seed from Reciprocal Crosses Between *P. vulgaris* Huds. and *P. veris* L., New Phytologist, 59, 3, 302-313.
- Woodell, S., R., J., 1969. Natural Hybridization in Britain between *Primula vulgaris* Huds. (the Primrose) and *P. elatior* (L.) Hill (the Oxlip). Watsonia, 7, 115-127.
- Zhang, L. ve Kadereit, J., W., 2004. Classification of *Primula* sect. *Auricula* (Primulaceae) Based on Two Molecular Data Sets (ITS, AFLPs), Morphology and Geographical Distribution, Botanical Journal of the Linnean Society, 146, 1-26.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Trabzon'da doğdu. Lise öğrenimini Trabzon Lisesi Yabancı Dil Ağırlıklı Bölümde tamamladı. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, İkinci Öğretim programında yükseköğrenimine başladı. Bu bölümden 2009 yılında mezun oldu. 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.