



## Araştırma Makalesi

https://doi.org/10.53803/turvehab.1377018

### Türkiye’den Yeni Bir *Cirsium* (Asteraceae) Hibriti, *Cirsium* × *giresunicum*

Veysel Uzun <sup>1</sup>, Tuncay Dirmenci <sup>2,\*</sup>, Taner Özcan <sup>2</sup>  
Turan Arabacı <sup>3</sup>, Bayram Yıldız <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Balıkesir Üniversitesi, TR-10145, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Matematik ve Fen Bilimleri Bölümü, Necatibey Eğitim Fakültesi, Balıkesir Üniversitesi, TR-10100, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup>Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Eczacılık Fakültesi, İnönü Üniversitesi, TR-44210, Malatya, Türkiye

<sup>4</sup>İsmail Cem Sokak, Yenikale Mahallesi, TR-35320, Narlıdere, İzmir, Türkiye

\*Yazışmadan sorumlu yazar: Tuncay Dirmenci, [dirmenci@balikesir.edu.tr](mailto:dirmenci@balikesir.edu.tr)

Geliş: 16.10.2023

Kabul: 06.11.2023

Çevrimiçi Yayın: 15.12.2023

#### Özet

Bu çalışmada *Cirsium* cinsine ait yeni bir hibrit olan *Cirsium* × *giresunicum* tanımlanmaktadır. Cinsin *Epitrachys* seksiyonunda yer alan *C. poluninii* ve *C. trachylepis* türleri arasında oluşan bu hibrit, morfolojik ve moleküler açıdan analiz edilmiştir. Morfolojik incelemelerde yeni hibritin bazı özelliklerini ebeveynleri ile paylaştığı, bazı özelliklerinin iki ebeveynin özellikleri arasında geçiş formunda olduğu, bazı özelliklerinin ise ebeveynlerin özelliklerinden farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Hibrit bireyler, yaşam formu, gövde boyu, gövde rengi gibi özellikler ile *C. poluninii* türüne benzerken, dış fillarilerinin dikencikli ve orta fillarilerinin geriye kıvrık olması gibi özellikleri ile de *C. trachylepis*'e benzemektedir. Moleküler analizler kapsamında çekirdek genomuna ait ITS bölgesi kullanılmıştır. Moleküler sonuçlar, *Cirsium* × *giresunicum*'un nükleer ITS genomlarında bazı polimorfik nükleotid bölgelerine sahip olduğunu ve iki atasının arasında bir konumda olduğunu göstermektedir. Bu konumlanma da, aslında hibrit bireylerin moleküler açıdan da ara karakterlere sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Asteraceae, *Cirsium*, Filogeni, Hibrit, Türkiye

### A New *Cirsium* (Asteraceae) Hybrid from Türkiye, *Cirsium* × *giresunicum*

#### Abstract

In this study, a new hybrid of the *Cirsium* genus, *Cirsium* × *giresunicum*, is described. This hybrid formed between *C. poluninii* and *C. trachylepis* in the *Epitrachys* section was analyzed morphologically and molecularly. In morphological examinations, it was observed that the new hybrid showed transitional characters between its parents. While the hybrid individuals resemble *C. poluninii* species with features such as life form, stem length and color, they also resemble *C. trachylepis* species with features such as the outer phyllaries being spiny and the middle phyllaries being curved backward. Within the scope of molecular analyses, the ITS region of the nuclear genome was used. Molecular results show that *Cirsium* × *giresunicum* has some polymorphic nucleotide regions in its nuclear ITS genomes appears to be positioned between its two parents. This indicates that hybrid individuals also possess intermediate molecular characteristics.

**Keywords:** Asteraceae, *Cirsium*, Phylogeny, Hybrid, Türkiye

#### GİRİŞ

*Cirsium* Mill. cinsi hem Türkiye hem de Dünya genelinde Asteraceae familyasının en fazla türe sahip cinslerinden biridir. Cinsin başta Kuzey Amerika, Avrupa, Kuzey Afrika, Doğu, Orta ve Güneybatı

Önerilen Alıntı:

Uzun, V., Dirmenci, T., Özcan, T., Arabacı, T. & Yıldız, B. (2023). Türkiye’den Yeni Bir *Cirsium* (Asteraceae) Hibriti, *Cirsium* × *giresunicum*. *Türler ve Habitatlar* 4(2): 125–138.

Asya'da olmak üzere yaklaşık 300 türü bulunmaktadır (Kadereit & Jeffrey 2007, POWO 2023). Türkiye ve Türkiye ile bağlantılı Avrupa ve Kafkasya bölgesi tür sayısının en fazla olduğu bölgelerin başında gelmektedir (Charadze 1963; Davis & Parris 1975; Werner 1976; Yıldız 2012; Dirmenci vd. 2020). Türkiye, bulunduğu konum itibarıyla sahip olduğu yüksek biyolojik çeşitliliğini *Cirsium* cinsi için de göstermekte olup dünya genelinde cinsin en fazla türüne sahip ülkelerin başında gelmektedir. Cinsin, Türkiye'de 34'ü endemik olmak üzere toplam 81 taksonu (69 tür) yayılış göstermektedir. (Yıldız 2012; Duman vd. 2017; Dirmenci vd. 2019; 2020). Bu taksonlar üç seksiyon altında sınıflandırılmış olup seksiyonlara göre dağılım şöyledir: *Epitrachys* DC. 51 tür, (53 takson), *Cirsium* 17 tür, (27 takson) ve *Cephalonoplos* (Neck.) DC. (1 tür) (Davis & Parris 1975; Dirmenci vd. 2019; Dirmenci vd. 2020).

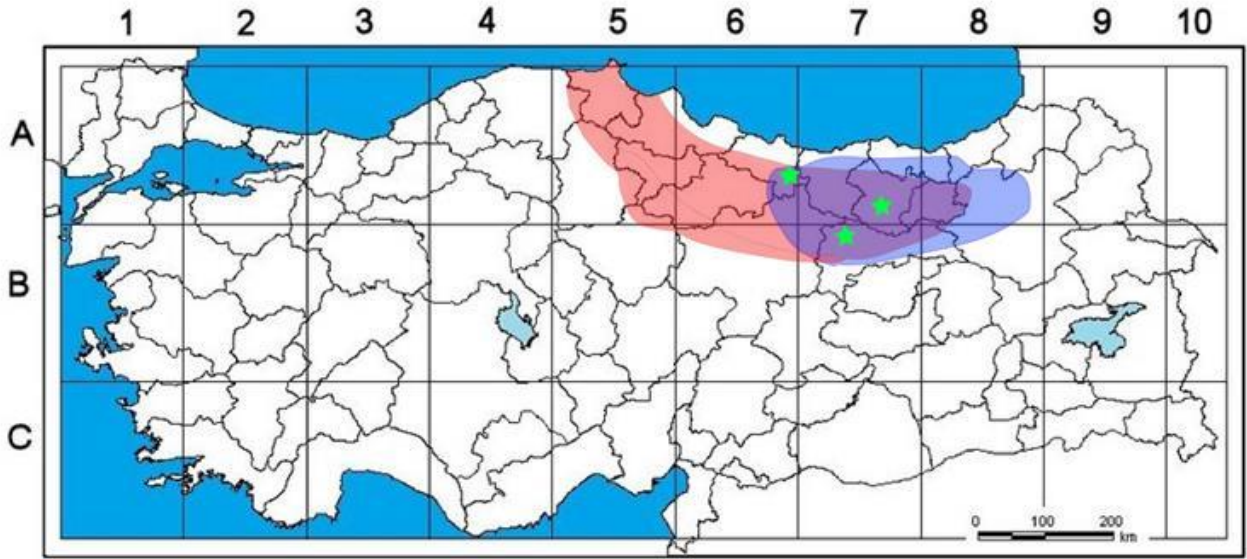
*Cirsium* cinsinin çeşitli floralarda hibritleri kayıtlı olsa da, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* adlı eserde herhangi bir hibriti kaydedilmemiştir. Ancak, sadece ebeveynleri verilen muhtemel iki (*Cirsium adjaricum* Sommier & Levier × *C. trachylepis* Boiss. ve *C. caucasicum* Petr. × *C. trachylepis*) ve bir ebeveyni bilinmeyen bir hibritten (*C. caucasicum* × *C. sp. ?*) bahsedilmiştir (Davis & Parris 1975). Türkiye'deki *Cirsium* hibritleri ile ilgili ilk çalışmalar ve tespitler Yıldız vd. (2016) tarafından yapılan çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu çalışmada (Yıldız vd. 2016), Türkiye *Cirsium* seksiyonu için iki hibrit, *Cirsium* × *pratigagum* Petr. ve *C. woronowii* Petr., kaydı verilmiştir. Daha sonra ise *Epitrachys* seksiyonu türleri arasında meydana gelen 3 yeni hibrit, *Cirsium* × *erzincanicum* Yıldız, Dirmenci & Arabacı, *C. × kelkitense* Yıldız, Arabacı & Dirmenci ve *C. × nezaketiae* Yıldız, Dirmenci & Arabacı, tanımlanmıştır (Dirmenci vd. 2019). Bu çalışmalar sonucunda, Türkiye'den şimdiye kadar toplam 5 hibrit kaydı verilmiştir. Ancak, dünya genelinde cins için şimdiye kadar yaklaşık 100 hibrit tanımlandığı düşünülürse (POWO 2023), Türkiye'deki tür sayısına göre hibrit sayısının daha fazla olması beklenebilir. Nitekim *Cirsium* cinsi revizyonu esnasında ve daha sonrasında yapılan saha çalışmalarında hibrit sayısının daha fazla olabileceğini destekleyen morfolojik bulgular gözlenmiştir. Gözlemler sonucu, özellikle *Epitrachys* seksiyonu türleri arasında hibritleşmenin daha sık meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Saha çalışmaları esnasında hibritlere ait toplanan örneklerin incelenmesi ile Türkiye'deki *Cirsium* cinsi türleri arasında meydana gelen hibritlerin tanımlanmasına Dirmenci vd. (2019)'nin çalışmasındaki üç hibritin tanımlanması ile başlanmış olup, bu çalışmada da 2006-2020 yılları arasında yapılan saha çalışmaları sırasında toplanan ve *Epitrachys* seksiyonunda yer alan *Cirsium poluninii* P.H. Davis & Parris ile *C. trachylepis* türleri arasında meydana gelen yeni bir hibritin tanıtımı yapılmaktadır.

## MATERYAL VE METOT

### Morfolojik Çalışmalar

Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyaller 2006–2020 yılları arasında Türkiye *Cirsium* cinsinin revizyonu sırasında ve sonrasında yapılan saha çalışmaları neticesinde Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanmıştır (Şekil 1). Taksonların fotoğrafları doğal yaşam alanlarında çekilmiştir (Şekil 2–3). Türlerin tanımlanmasında *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Davis & Parris 1975) başta olmak üzere, bölge floraları ile *Cirsium* cinsi üzerinde yapılan diğer çalışmalar kullanılmıştır (Charadze 1963; Werner 1976; Petrak 1979; Bures vd. 2004; 2018; 2023; Yıldız vd. 2009, 2016; Dirmenci vd. 2019). Ayrıca, saha çalışmalarında toplanan örnekler Türkiye'nin ve Avrupa'nın önemli herbaryumlarında (ANK, B, BM, E, FI, GAZI, K, LD, LE, W, WU) bulunan örnekler ile karşılaştırılmıştır. Morfolojik ölçümler Nikon SMZ-745T stereo mikroskop altında milimetrik cetvel

ile yapılmıştır. Yeni hibritin betimi yapılmış ve ebeveynleri ile benzerlik ve farklılıkları tablo şeklinde düzenlenerek karşılaştırılmıştır (Tablo 1).



Şekil 1. *Cirsium* × *giresunicum* (★), *C. trachylepis* (■) ve *C. poluninii* (■) taksonlarının yayılışı.

### Moleküler Çalışmalar

Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, hibritlerin belirlenmesinde moleküler düzeyde yapılan analizler büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmadaki moleküler çalışmalar 3 ana basamak şeklinde gerçekleştirilmiştir. Bu basamaklar aşağıda sırayla verilmiştir.

**DNA Ekstraksiyonu.** Moleküler çalışmalar için ebeveyn ve olası hibritlerin doğal habitatlarından toplanmış ve küflenme belirtisi olmayan örnekleri seçildi. Ekstraksiyon çalışmaları için *Cirsium poluninii* türünden 7 örnek, *C. trachylepis* türünden ise 4 örnek kullanıldı. Atalara ait olan bu bireylere ek olarak, hibrit olduğu düşünülen ve bu çalışmada ilk kez tanımlanan *C. × giresunicum* taksonundan da 5 adet bireyden DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Arazi çalışmaları esnasında toplanan yukarıda bahsi geçen ve Tablo 2’de “\*” sembolü ile 16 adet bireyin DNA ekstraksiyonları DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany) kullanılarak ve üreticinin talimatlarına uyularak gerçekleştirildi. Sadece inkübasyon süreci kullanıcı talimatlarından 10 dakika fazla uygulandı.

**Polimeraz Zincir Reaksiyonu Çalışmaları.** DNA ekstraksiyonu sonrasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için nrDNA ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesi kullanıldı. ITS bölgesinin amplifikasyonu için ITS5a (5’-CCT TAT CAT TTA GAG GAA GGA G-3’) (Stanford vd. 2000) ve ITS4 (5’-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3’) (White vd. 1990) primerleri kullanıldı ve Shaw vd. (2007) tarafından önerilen PZR protokolü uygulandı. PZR çalışmaları üç basamak şeklinde gerçekleştirildi: Denatürasyon aşaması 94°C’de 1 dakika, bağlanma aşaması 52–54°C’de 30 saniye, uzama aşaması ise 72°C’de 40 saniye olarak 30 tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi.

**DNA dizilenmesi ve işlenmesi.** Elde edilen PZR ürünleri, dizilemeye gönderilmeden önce %0,8’lik agaroz içeren jel elektroforezine tabi tutularak bantların oluşup oluşmadığı (yani PZR uzamasının

gerçekleşip gerçekleşmediği) kontrol edildi. Uygun bantlar gözlemlendikten sonra, elde edilen PZR örnekleri dizileme işlemleri için Genoks firmasına (Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi, Ankara, Türkiye) gönderildi. Ham DNA dizileri BioEdit (Hall 1999) programı kullanılarak incelendi ve 5' ve 3' uçlarından kirliliğe neden olan primer dizileri kesilerek çıkartıldı. Tüm elde edilen dizilerden tek tek kontigler (ortak karar dizileri) elde edildikten sonra tüm kontigler Clustal W (Thompson vd. 1994) kullanılarak alt alta hizalandı.

### Filogenetik Analizler

Bir önceki aşamada yapılan hizalama işleminden sonra iki farklı analiz yapıldı. Birinci analiz için dış gruplarla beraber 47 takson çalışıldı (Tablo 2'de verilen ve gen bankasından alınan örnekler) ve toplamda 616 karakter elde edildi. İkinci analiz için ise hibritler çalışılmış fakat ataları çalışmaya dahil edilmedi. Bu analiz için ise yine dış gruplarla beraber 17 takson çalışılıp yine 616 karakter analiz edildi. Elde edilen bu dizi verileri Bayesian çıkarımı (BI) ve maksimum olasılık (ML) algoritmalarına göre analiz edildi. İki farklı analiz için de veriler online olarak işlem gören CIPRES (Miller vd. 2010) üzerinde değerlendirildi. Bayesian algoritması için filogenetik analizler CIPRES içerisindeki MrBayes on XSEDE programı ve maksimum olasılık analizleri için de RaxML-NG programları kullanıldı. MrBayes analizleri 5 milyon generasyon boyunca 1000 nesilde bir ağaç üretilecek ve 4 kez koşturma olacak şekilde programlanmış olup bu analizler sırasında en uzak dış grup olarak da *Tyrimnus leucographus* Cass. (AY826343) seçildi. Yine RaxML analizleri için aynı dış grup seçilerek bootstrap döngüsü 1 milyon döngü olarak seçildi. Yapılan analizlere göre elde edilen filogenetik ağaçlar şekil 4 ve 5'te verilmiştir.

## SONUÇLAR

### Morfolojik Sonuçlar

***Cirsium × giresunicum*** Yıldız, Arabacı & Dirmenci, **nothosp. nov.** (Şekil 2–3).

(*Cirsium poluninii* Davis & Parris × *C. trachylepis* Boiss.)

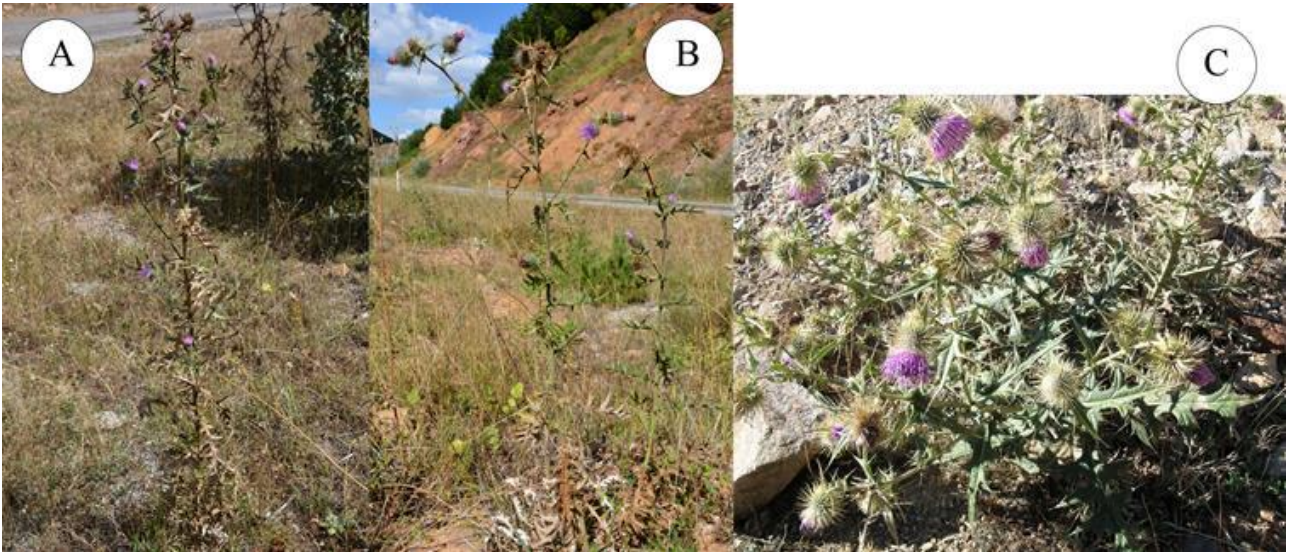
**Tip.** Türkiye. **Giresun:** Şebinkarahisar-Giresun arası 33. km, Eğribel geçidi kuzeyi, 1780 m a.s.l., alpinik çayırliklar, 06.08.2017, *Yıldız, Dirmenci 4841 & Arabacı (holotip: GAZI!; izotip: ANK!)*.

**Paratip.** Türkiye. **Sivas:** Hafik-Doğanşar arası, yol ayrımından 42–44. km, *P. sylvestrys* L. ormanı yakını yol kenarları, 1580 m a.s.l., 05.09.2016, *Yıldız, Dirmenci 4702 & Arabacı* (Hb. Dirmenci!); aynı yer, 05.08.2017, *Yıldız, Dirmenci 4830 & Arabacı* (Hb. Dirmenci!); aynı yer, *Yıldız 16399* (Hb. Dirmenci!); **Giresun:** Şebinkarahisar-Giresun arası 33. km, Eğribel geçidi kuzeyi, 1780 m a.s.l., alpinik çayırliklar, 03.09.2016, *Yıldız & Dirmenci 4666* (Hb. Dirmenci!).

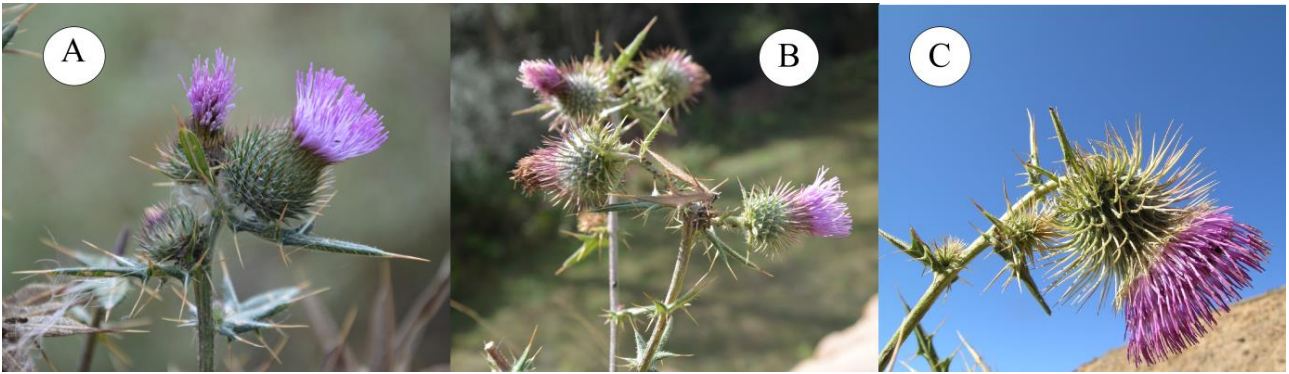
**Diagnosis.** *Cirsium × giresunicum* is similar to its parents, *C. poluninii* and *C. trachylepis*. It can be distinguished from *C. poluninii* as follows: its capitula nodding (not erect), its median stem leaves pinnatifid to pinnatisect (not pinnatisect), phyllaries are sparsely to densely arachnoid (not sparsely arachnoid), margins of outer phyllaries' spine are 1–3 mm long (not absent or shorter than 1 mm), median phyllaries are 15–20 mm long and recurved (not 8–15 mm and erect). It differs from *C. trachylepis* in its life form is biennial (not perennial), main stem is single and purple (not many from base and green), length of median phyllaries are 15–20 with c. 5 mm apical spine (not 25–30 mm with 5–13 mm apical spine), length of corolla and pappus are 10-15 mm and 10-15 mm long, respectively (not 25-30 mm long and 15–22 mm long, respectively) (Figure 2A-C and 3A-C).

**Diyagnoz.** *Cirsium* × *giresunicum*, ebeveynleri olan *C. poluninii* ve *C. trachylepis* ile bazı benzer özelliklere sahiptir. Ancak, onlardan farklı özellikleri de bulunmaktadır. *Cirsium poluninii*'den kapitulularının sarkık (dik değil), orta gövde yapraklarının az teleksiden derin teleksiye kadar parçalanması (derin teleksi değil), fillarilerinin seyrek ila yoğun tüylü olması (seyrek değil), dış fillarilerinin kenarlarının 1–3 mm uzunluğunda dikencikli (dikencik yok ya da varsa 1 mm'den kısa değil), orta fillarilerinin 15–20 mm uzunluğunda (8–15 mm uzunluğunda değil) olması ile ayırt edilir. *C. trachylepis*'ten ise, yaşam formunun iki yıllık (çok yıllık değil), ana gövdesinin tek ve morumsu renkli (tabandan çok sayıda ve yeşil değil), orta fillari uzunluğunun 5 mm uç dikenini dahil 15–20 mm (5–13 mm uç dikenini dahil 25–30 mm uzunluğunda değil), korolla uzunluğu 10–15 mm (25–20 mm uzunluğunda değil) ve pappus uzunluğunun 10–15 mm (15–22 mm uzunluğunda değil) olması ile ayrılır.

**Betitleme.** İki yıllık. Gövde 100–150 cm boyunda, tek ve yukarıda dallanmış, kırmızımsı, kanatsız, çizgili, seyrek örümcekağı tüylü. Yapraklar tabandan yukarı doğru azalan ölçülerde, üst yüzeyde 2 mm<sup>2</sup> deki seta sayısı 5'ten fazla, tüsüz, alt yüzeyde yoğun örümcekağı tüylü. Taban yaprakları 30–37 × 8–12 cm ölçülerde, derin teleksi parçalı, loblar iki parçalı ya da üç parçalı, şekli üçgensimzraksıdan mızraksıya kadar, uç dikenini 8–15 mm uzunluğunda, diken ince; alt gövde yaprakları yaklaşık 30 × 8 cm ölçülerde, derin teleksi parçalı, şekli dikdörtgensel; orta gövde yaprakları 17–22 × 10–13 cm ölçülerde, derin teleksi parçalı, şekli dikdörtgensel, alt yüzü azdan yoğunu kadar örümcekağı tüylü; üst gövde yaprakları 6–15 × 1–11 cm ölçülerde, az teleksiden derin teleksiye kadar parçalı, şekli dikdörtgenselden mızraksıya kadar, alt yüzü azdan yoğunu kadar örümcekağı tüylü. İnvolutrum yaprakları 3–5 adet, 3–6 cm uzunluğunda (1 cm uzunluğunda uç dikenini dahil), kapituluma eşit ya da daha uzun, şekli mızraksıdan şeritsiye kadar. Kapitulum belirgin veya hafif şekilde sarkık, ters küremsi, 2–3 × 1.5–2.5 cm. Fillariler 6–8 seri, yoğun örümcekağı tüylü, dıştakiler 12–17 mm uzunluğunda, 4 mm uzunluğunda uç dikenini dahil, şekli yumurtamsıdan mızraksıya kadar, kenar dikenini yok ya da 1–4 mm uzunluğunda dikencikli; ortadakiler 16–20 mm uzunluğunda, 5 mm uzunluğunda uç dikenini dahil, şekli mızraksı, hafifçe geriye kıvrık, seyrek ila yoğun örümcekağı; içtekiler 18–22 mm uzunluğunda, şekli şeritsi-mızraksı. Korolla mor, 10–15 mm uzunluğunda. Stamen 8–9 mm uzunluğunda, filament tüylü. Pappus 10–15 mm uzunluğunda. Aken bilinmiyor.



**Şekil 2.** Habitat ve genel görünüş. A: *Cirsium poluninii*, B: *C. × giresunicum*, C: *C. trachylepis*.



**Şekil 3.** Kapitulanın gövde üzerinde duruşu: A: *Cirsium poluninii*, B: *C. × giresunicum*, C: *C. trachylepis*.

**Etimoloji.** Hibrit ismi, hibritin yayılış alanı göz önüne alınarak “Giresun” iline ithaf edilmiştir.

**Habitat ve Ekoloji.** *Cirsium × giresunicum*, Giresun ve Sivas illerinden tespit edilmiştir. Giresun ilinde Şebinkarahisar-Tamdere arasında yer alan Eğribel geçidinin kuzey kısmında orman katı üzerinde 1800 m a.s.l. civarında, Sivas ilinde ise Hafik-Doğanşar ilçeleri arasında yaklaşık 1550–1600 m a.s.l. arasında yol kenarlarında ve *Pinus sylvestris* (sarıçam) ormanı yakınlarında yayılış göstermektedir.

### Moleküler Sonuçlar

Bu çalışmada morfolojik verilerin desteğiyle ilk kez tanımlanan *C. × giresunicum* hibriti ve ebeveynleri (*C. poluninii* ve *C. trachylepis*) moleküler yaklaşımlar da kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada 5 farklı *C. × giresunicum*, 7 farklı *C. poluninii* ve 4 farklı *C. trachylepis* örneği ilk kez çalışılarak analiz edilmiştir. Ayrıca, bir adet *C. trachylepis* dizisi de (MN918966) GenBank (N.C.B.I.)’tan temin edilmiştir. Dış grup olarak kullanılan türler ve daha iyi bir karşılaştırma için kullanılan diğer tür ve hibritler GenBank’ tan (N.C.B.I) alınmış olup, erişim numaraları ile verilmiştir. (Bkz. Ekler). Ayrıca bu çalışmada elde edilen ve düzenlenen çekirdek genomunun ITS bölgesine ait diziler GenBank’a yüklenmiştir.

*Cirsium* cinsinin farklı türleri ve hibritleri hakkında yapılan moleküler çalışmalara göre ITS bölgesinin türlerin ayrılmasında ve tanımlanmasında açıklayıcı bilgiler verdiği gösterilmiştir (Kelch & Baldwin 2003; Slotta vd. 2012; Dirmenci vd. 2019). Bu çalışmada da nrITS bölgesinin dizilenmesinden sonra 616 nükleotid uzunluğunda dizi elde edilmiş olup, ebeveyn ve hibritler arasındaki polimorfik bölgeler tablo 2’de verilmiştir. Bu verilere göre *C. × giresunicum* hibritine ait incelenen tüm bireylerde 429, 543, 547, 564 ve 571. nükleotidlerde polimorfik bölgeler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca TD4666, TD4830 ve TD4841 numaralı örnekler 605. bazda polimorfizm göstermiştir. Yine tablo 2’den görüleceği üzere ebeveyn türlerden bazılarının da farklı bazlarda polimorfik bölgeleri olduğu gösterilmiştir. Bilhassa, *C. trachylepis* atasına ait olan örneklerde bu polimorfik bölgeler daha dikkat çekicidir. Ek olarak, gen bankasından alınan *C. trachylepis* (MN918966) örneği ile bu çalışmada kullanılan atalardan olan TD4662 ve TD4840 kodlu *C. trachylepis* örneklerinde görülen polimorfik bölgeler benzer konumdadır.

Elde edilen filogenetik ağaç, yukarıda da bahsedildiği gibi Bayesian çıkarımı ve maksimum olasılık algoritmalarına göre yapılmıştır. İki farklı algoritma analizi ile elde edilen ağaçlara ait bayesian “posterior probability” (P.P.) değerleri ile maksimum olasılık “bootstrap” (B.S.) değerleri

tek bir ağaç üzerinde Şekil 4 ve 5'te gösterilmiştir. Dış gruplar ve hibritlerin atalarının da dahil edildiği 47 takson kullanılarak yapılan filogenetik analize göre 616 karakterin 517'si sabit, 45 karakter parsimonik açıdan bilgilendirici değilken, 54 karakter ise parsimonik açıdan bilgi verici olarak bulunmuştur. Türler ve hibritler arası ilişkiyi daha iyi açıklayabilmek adına iki farklı ağaç elde edilmiştir. 1'inci ağaçta (Şekil 4) dış gruplar ve hibritleri ile ataları verilmiştir. Bu ağaca göre, bu çalışmada tanımlanan *C. × giresunicum* iki atası ile ortak bir kladı paylaşmaktadır ve moleküler açıdan iki atasının arasında bir form göstermektedir. Ayrıca, 1'inci ağaca (Şekil 4) daha önce Dirmenci vd. (2019) tarafından tanımlanan ve moleküler açıdan nrITS dizilerinin özellikleri ortaya koyulan ve *Epitrachys* seksiyonuna ait olan üç farklı hibrit (*C. × kelkitense*, *C. × erzincanicum*, *C. × nezaketiae*) katılarak hibritlerin ve atalarının konumlanmaları daha net ortaya koyulmuştur. Buna göre, daha önce tanımlanan (Dirmenci vd. 2019) üç hibrit ve ataları bu çalışmada tanımlanan *C. × giresunicum* ve atalarından farklı bir moleküler doğaya sahiptir. Şekil 5'te yer alan diğer filogenetik ağaçta ise sadece hibritler ile dış gruplar ve *Cirsium* seksiyonuna ait bazı taksonlar kullanılmıştır. Bu verilere göre daha önce Dirmenci vd. (2019) tarafından tanımlanan hibritler bir grupta yer alırken, *C. × giresunicum* hibritleri ayrı bir grupta yer almıştır. Dış grup olan kullanılan türlerde ise *Tyrimnus* Cass. en dışta yer alırken *Carduus* L. üyeleri *Cirsium* türlerine daha yakın konumlanmıştır.

**Tablo 1.** Taksonların morfolojik olarak karşılaştırılması.

Karakterler	<i>C. poluninii</i>	<i>C. × giresunicum</i>	<i>C. trachylepis</i>
<b>Yaşam formu</b>	iki yıllık	iki yıllık	çok yıllık
<b>Gövde özellikleri</b>	tek, dik ve yukarıda dallanmış, morumsu renkli	tek, dik yukarıda dallanmış, morumsu renkli	tabanda çok gövdeli, yukarıda dallanmış, yeşil renkli
<b>Orta gövde yaprak parçalanması</b>	derin teleksi	az teleksiden derin teleksiye	az teleksiden derin teleksiye
<b>İnvolutral yaprak özellikleri</b>	3–4 adet, involukruma eşit veya daha uzun	3–5 adet, involukruma eşit veya daha uzun	2–10 adet, involukrumdan kısa, eşit veya nadiren daha uzun
<b>Kapitulum özellikleri</b>	saplı, dik, basık yumurtamsıdan ters küremsiye kadar, 15–25 × 15–30 mm	saplı, sarkık, ters küremsi, 20–30 × 15–30 mm	saplı, sarkık, basık küremsiden geniş ters yumurtamsıya, 25–35 × 30–35 mm,
<b>Fillari tüylenmesi</b>	seyrek örümcekağsı tüylü	yoğun örümcekağsı tüylü	seyrek ila yoğun örümcekağsı tüylü
<b>Dış fillari özellikleri</b>	fillari kenarlarında diken yok ya da varsa 1 mm'den kısa	fillari kenarları 1–3 mm uzunluğunda dikencikli	fillari kenarları 1–5 mm uzunluğunda dikencikli
<b>Orta fillari özellikleri</b>	8–15 mm uzunluğunda ve 0.5–1.5 mm	15–20 mm uzunluğunda ve 5 mm uzunluğunda uç dikeni	25–30 mm uzunluğunda ve 5–13 mm uzunluğunda

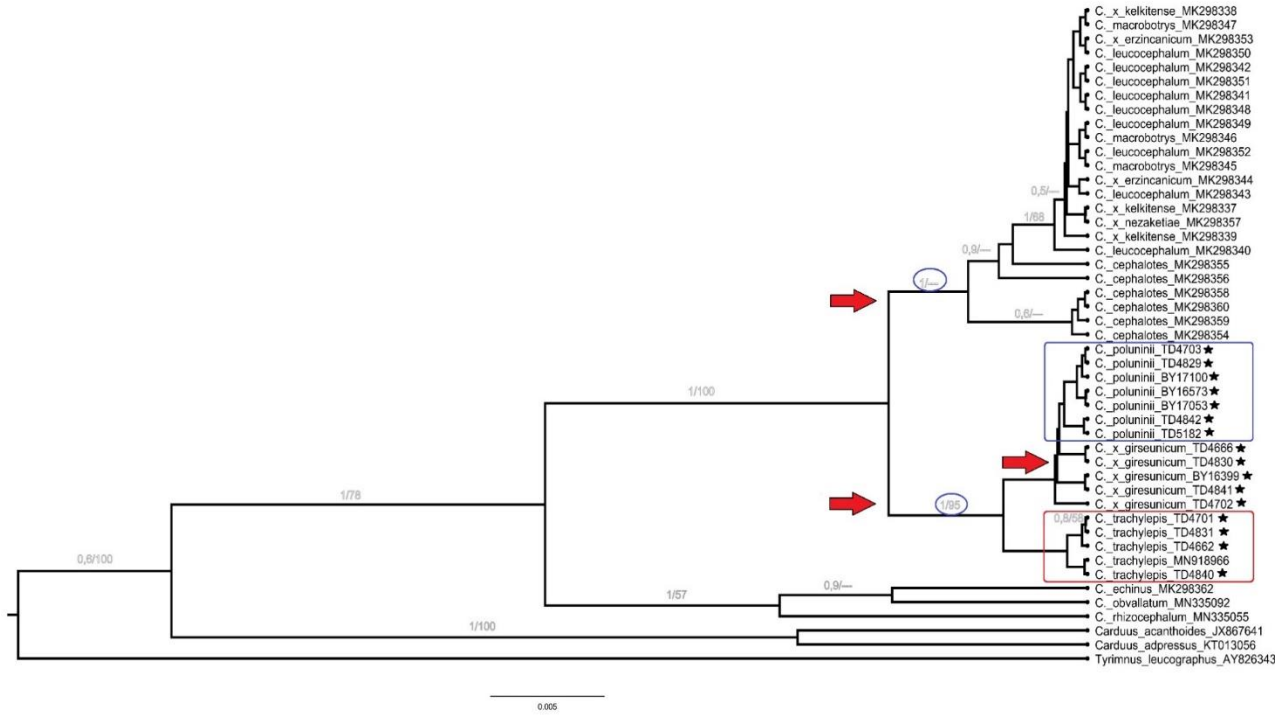
	uzunluğunda uç dikeni dahil, dik	dahil, hafifçe geriye kıvrık	uç dikenini dahil, geriye kıvrık
<b>Korolla uzunluğu</b>	16–25 mm uzunluğunda	10–15 mm uzunluğunda	25–30 mm uzunluğunda
<b>Pappus uzunluğu</b>	13.5–20 mm uzunluğunda	10–15 mm uzunluğunda	15–22 mm uzunluğunda

Şekil 4'te verilen çekirdek genomundan ITS bölgesinin dizileri kullanılarak elde edilen filogenetik ağaçta görüldüğü üzere, her ne kadar *Cirsium* cinsinin üyeleri hariç dış grup olarak çok fazla örnek kullanılmamış olsa bile (*Carduus* ve *Tyrimnus* üyeleri) genel anlamda *Cirsium* cinsinin daha dar anlamda ise *Epitrachys* ve *Cirsium* seksiyonu üyelerinin kendi içlerinde monofiletik olduğu görülmektedir. Bu çalışmada analiz edilen ve *Epitrachys* seksiyonuna ait olan taksonların *Cirsium* seksiyonuna ait olan taksonlardan (*C. echinus* Hand. -Mazz., *C. obvallatum* M. Bieb. ve *C. rhizocephalum* C.A.Mey.) 1/100 (PP/BS) değerleri ile ayrıldığı görülmektedir. Diğer yandan, *Epitrachys* seksiyonu üyeleri de kendi içinde iki dala ayrılmıştır (bkz. sol taraftaki alt alta olan kırmızı oklar). Bu dallardan bir tanesi *C. cephalotes* Boiss., *C. leucocephalum* (Willd.) Spreng., *C. macrobotrys* (K. Koch) Boiss. ve bunların hibritlerini içermektedir. Bu dal kendi içinde incelendiğinde, *C. cephalotes* taksonun diğer gruplardan daha ayrı konumlandığı görülmektedir. Bu durum daha önce de Dirmenci vd. (2019) tarafından da gösterilmiştir. Bu açıdan bakıldığında, güncel çalışmamızda elde edilen verilerin bu ayrımı bozmadığı da net bir şekilde görülmektedir.

**Tablo 2.** *Cirsium × giresunicum* ve ebeveynlerinin polimorfik bölgeleri.

Taksonlar	Nükleotid						
	429	543	547	564	571	599	605
<i>Cirsium poluninii</i> TD4842*	G	C	C	G	G	G	T
<i>C. poluninii</i> BY16573*	G	C	C	G	G	G	G
<i>C. poluninii</i> TD4829*	G	C	C	G	G	G	G
<i>C. poluninii</i> TD5182*	G	C	C	G	G	G	G/T
<i>C. poluninii</i> TD4703*	G	C	C	G	G	G	G
<i>C. poluninii</i> BY17053*	G	C	C	G	G	G	G
<i>C. poluninii</i> BY17100*	G	C	C	G	G	G	G
<i>Cirsium × giresunicum</i> TD4702*	A/G	C/T	C/T	A/G	A/G	G	G
<i>C. × giresunicum</i> BY16399*	A/G	C/T	C/T	A/G	A/G	G	G
<i>C. × giresunicum</i> TD4666*	A/G	C/T	C/T	A/G	A/G	G	G/T
<i>C. × giresunicum</i> TD4841*	A/G	C/T	C/T	A/G	A/G	G	G/T
<i>C. × giresunicum</i> TD4830*	A/G	C/T	C/T	A/G	A/G	G	G/T
<i>Cirsium trachylepis</i> MN918966	A/G	C/T	T	A	A/G	G	G
<i>C. trachylepis</i> TD4701*	A	T	T	A	A	A	G
<i>C. trachylepis</i> TD4831*	A	T	T	A	A	A	G
<i>C. trachylepis</i> TD4662*	A/G	C/T	T	A	A	G	G
<i>C. trachylepis</i> TD4840*	A/G	C/T	T	A	A	G	G





Şekil 4. ITS verilerine göre elde edilmiş filogenetik ağaç (soldakiler PP, sağdakiler BS değerleridir).

İkinci dalı incelediğimizde ise ilk defa bu çalışmada kullanılan örnekleri belirtmek için yanlarına “★” sembolü eklenmiştir. Bu çalışmada tanımlanan olası hibrit bireylere ait *C. × giresunicum* dizilerinin ve atalarının toplandığı bu ikinci dalın 1/95 (PP/BS) değerleri ile ayrıldığı görülmektedir (mavi elips içine alınıp, dal kırmızı ok ile gösterilmiştir). Atasal olarak arazi çalışmalarında gözlemlenen veya herbaryum örnekleri olarak temin edilen *C. poluninii* ve *C. trachylepis* bireylerin kendi içlerinde gruplanmışlardır ve *C. × giresunicum* ise bu iki atasının arasında bir konumda fakat *C. poluninii* bireylerinden oluşan alt dala daha yakın konumdadır (kırmızı ok ile gösterilmiştir).

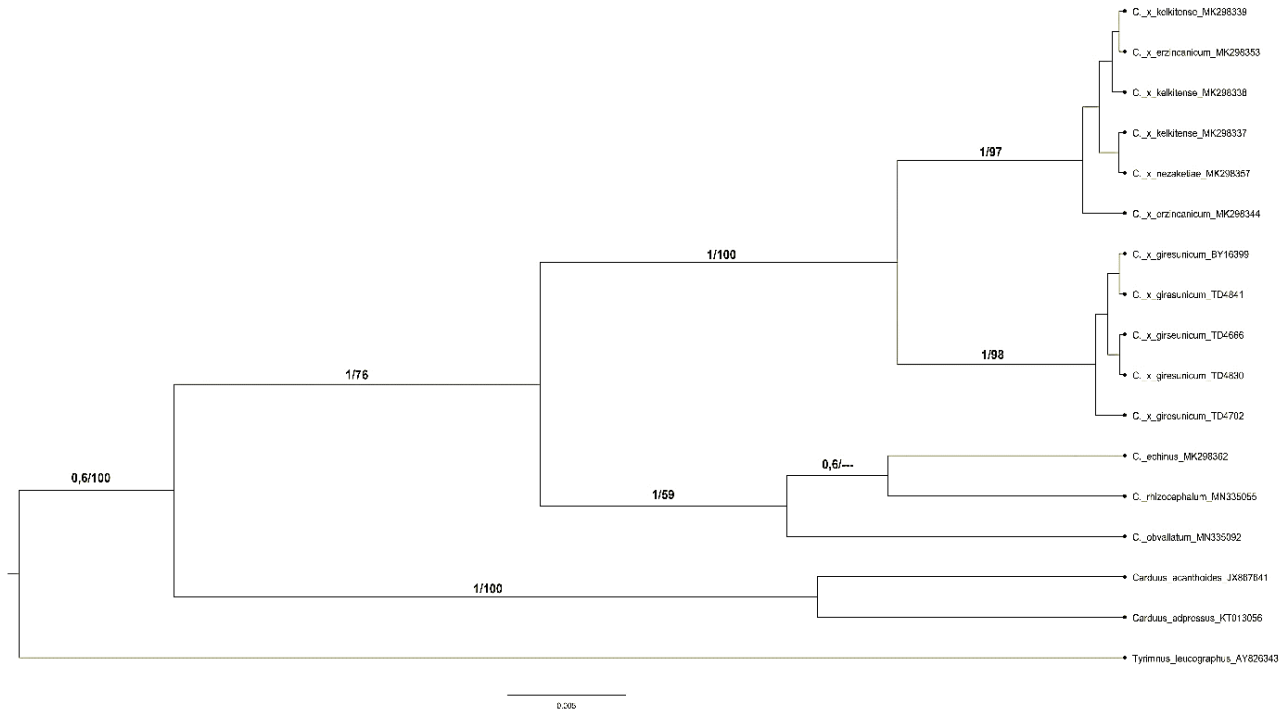
Şekil 5’te ise *C. × giresunicum* ve daha önceden Dirmenci vd. (2019) tarafından tanımlanan hibritleri ve bazı dış grupları içeren bir ağaç bulunmaktadır. Bu ağaç analiz edildiğinde görülmektedir ki, bu çalışmada ilk kez tanımlanan *C. × giresunicum* daha önce yine Türkiye’den aynı çalışma grubu tarafından tanımlanan *C. × nezakataiae*, *C. × kelkitense* ve *C. × erzincanicum* hibritlerinden moleküler açıdan (ITS bölgesi) bariz farklılık göstermektedir. *C. × nezakataiae*, *C. × kelkitense* ve *C. × erzincanicum* hibritlerinin dalı incelendiğinde (1/97 değerleri ile ayrılan) bu üç hibritin iç içe geçtiği görülmektedir. Bu gayet normaldir. Çünkü bu üç hibrit birbirine yakın alanlardan ve üçü de ortak atalarının genlerini içermektedir (Dirmenci vd. 2019). Şekil 4 ve 5 birlikte incelendiğinde açıkça görülmektedir ki, *C. × giresunicum* daha önce tanımlanan hibritlerden ebeveynlerinin farklı olmasından dolayı moleküler açıdan farklı konumdadır ve iki atasal taksona ait bireyler ile ortak dalları paylaşmakta ama iki atasının da DNA verilerine sahiptir (Tablo 2).

## TARTIŞMA

*Cirsium* cinsinin revizyonu esnasında tespit edilen tanımlanmış veya tanımlanmamış hibritlerde olduğu gibi, Türkiye’de yapılan diğer hibrit tanımlama çalışmalarında da hibritlerin ölçülebilir veya ölçülemeyen bazı karakterlerinin ebeveynleri arasında geçiş özelliklere sahip olduğu, bazı karakterlerinin ise ebeveynlerden farklı olduğu rapor edilmiştir (Dirmenci vd. 2018; 2019; Arabacı vd. 2021; Cattaneo & Dirmenci 2022; Cattaneo vd. 2022). Burada tanımlanan *Cirsium × giresunicum* yaşam formu, gövde boyu ve rengi, gövde dallanması bakımından *C. poluninii*’ye benzerlik gösterirken, kapitulanın sarkık, dış fillarilerinin dikencikli, orta fillarilerinin geriye kıvrık olması ile

*C. trachylepis*'e benzerlik göstermektedir (Şekil 2 ve 3). Özellikle fillari boyu bakımından ara ölçülerde olmasına rağmen, yaprak parçalanması az teleksiden derin teleksiye kadar olması ile *C. trachylepis*'ten *C. poluninii*'ye doğru bir seri yaprak parçalanma özelliğine sahiptir. Korolla ve pappus ölçülerinin her iki ebeveynden daha kısa olması ile ayrı özellikler sergilemektedir (Tablo 1).

Bu çalışmadaki morfolojik verilerin yanı sıra, *Cirsium poluninii* ve *C. trachylepis* türleri arasında meydana gelen *C. × giresunicum* hibriti moleküler açıdan da detaylı olarak incelenmiştir. *C. trachylepis* türü daha önce farklı bir çalışmada moleküler açıdan çalışılsa da söz konusu çalışmada genel olarak genom boyutu ve GC içeriğine değinilmiştir (Ackerfield vd. 2020). *C. poluninii* türü ise moleküler veriler açısından ilk kez bu çalışmada incelenmiştir.



Şekil 5. Türkiye’de tanımlanan hibritlerin ITS verileri kullanılarak oluşturulmuş filogenetik ağaç.

*Cirsium* cinsi, yakın akraba türler arasında yaygın hibridizasyon ve poliploidizasyon nedeniyle yüksek morfolojik çeşitlilik ve polimorfizm sergilemektedir (Bureš vd. 2004; Nouroozi vd. 2012; Kang vd. 2021). *Cirsium* da dahil olmak üzere diğer cinslerin doğal melezlerinin ebeveyn türlerle karşılaştırıldığında ara DNA içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir (Zhou vd. 2010; Dirmenci vd. 2019). nrITS bölgesi hem türler hem de hibritler arası ilişkileri açıklamada oldukça bilgi verici olduğundan filogenetik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Segarra-Moragues vd. 2007; Dirmenci vd. 2019; Ackerfield vd. 2020; Arabacı vd. 2021). Hibritlerin moleküler açıdan tanımlanmasında nrITS bölgesine ait nükleotidlerin polimorfizm göstermesi yararlı olmaktadır.

Türkiye her ne kadar *Cirsium* cinsinin en önemli gen merkezlerinden biri olsa da cinse ait hibritler ile ilgili moleküler açıdan sadece bir araştırma yapılmıştır. Dirmenci vd. (2019) tarafından yapılan bu çalışmada *Epitrachys* seksiyonuna ait üç hibrit morfolojik, palinolojik ve moleküler yönden araştırılarak tanımlanmıştır. Bunlar; *C. × nezaketiae* [*Cirsium cephalotes* Boiss. × *Cirsium macrobotrys* (K.Koch) Boiss.], *C. × kelkitense* [*Cirsium cephalotes* × *Cirsium leucocephalum* (Willd.) Spreng. subsp. *leucocephalum*] ve *C. × erzincanicum* [*Cirsium leucocephalum* subsp. *leucocephalum* × *Cirsium macrobotrys*] hibritleridir. Söz konusu çalışmaya göre hibritler morfolojik açıdan bazı özellikleri ile bir ebeveyne, bazı özellikleri ile de diğer ebeveyne benzemektedir. Aynı çalışmada polen tanelerinin boyutlarının hibritlerde ara değerlerde olduğu, hibrit polenlerinin düzensiz şekillerde olduğu, moleküler açıdan da hibritlerin polimorfik nükleotidlere sahip olduğu gösterilmiştir. Polimorfik bölge sayısı bazı hibritlerde fazla olabilirken, bazı hibritlerde daha az

sayıda olabilmektedir. Örneğin, Segarra-Moragues vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada tanımlanan *Cirsium* × *vivantii* L. Villar, Segarra, J.López, Pérez-Coll. & Catalán hibriti ITS bölgesine ait 29 farklı polimorfik nükleotid içermektedir. Türkiye’de yapılan çalışmada ise (Dirmenci vd. 2019) *C. × nezaketiae* 10, *C. × kelkitense* 6 polimorfik nükleotid içermektedir. Ayrıca hibritler aynı ebeveynlere sahip olsalar da, farklı sayıda polimorfik bölge içerebilmektedir (Segarra-Moragues vd. 2007). Bu çalışmadaki bazı örneklerde (TD4702, BY16399) 5, bazı örneklerde ise (TD4666, TD4841, TD4830) 6 polimorfik bölge tespit edilmiştir. Polimorfik bölgelerin azlığı ya da çokluğu hibritlerin tanımlanmasında belirleyici karakter olmasa da, bazı bireylerde polimorfik bölgeler hibritin ayırt edilmesinde kullanışlı olabilmektedir. Polimorfik bölgeler, sadece hibritlerde değil aynı zamanda ebeveynlerde de görülmektedir. Bunun sebebi olarak ise ebeveyn türlerin ve hibritlerin çok küçük bir alanda kompleks içinde yaşamaları nedeniyle geri çaprazlamaların mümkün olabileceğidir.

Filogenetik ağaç incelendiğinde (Şekil 4) *C. × giresunicum* hibriti ebeveynleri ile aynı klad üzerinde ve ebeveynlerinin arasında ancak *C. poluninii*’ye daha yakın konumda yer almaktadır. Bu durum, hibritlerin ebeveynlerine yakın karakterler sergilese de aslında onlardan farklı taksonlar olduğunu da göstermektedir. Ayrıca bu sonuç morfolojik olarak ara karakterlere sahip olan hibritleri moleküler açıdan da desteklemektedir. Diğer filogenetik ağaç (Şekil 5) incelendiğinde farklı ebeveynlere sahip hibritlerin (*C. × nezaketiae*, *C. × kelkitense*, *C. × erzincanicum* ortak ebeveynlere sahiptir) farklı kladlar üzerinde yer aldığı görülmektedir. Ayrıca *C. × giresunicum* hibritinin Türkiye’de daha önce tanımlanan hibritlerden morfolojik özelliklerin yanı sıra moleküler açıdan da ayrı konumda olduğunu desteklemektedir. Sonuç olarak, hibritlerin tanımlanmasında DNA verileri tek başına yeterli olmasa da, bu veriler *Cirsium* cinsi içinde hibritleşmenin yaygın bir süreç olduğuna dair kanıtlar sunmaktadır.

*Cirsium* cinsinin bazı araştırmacılara göre dünya genelinde 450’den fazla türe sahip olduğu belirtilmektedir (Ackerfield vd. 2020; Moreyra vd. 2023). Cinsin büyüklüğü ve morfolojik açıdan çeşitliliği cinsin sınıflandırılması konusunda tartışmalara neden olmuştur. Del Guacchio vd. (2022) tarafından *Cirsium* dört farklı cinse ayrılmıştır (*Cirsium* Mill. s. str., *Lophiolepis* Cass., *Epitrachys* ve *Lophiocirsium* Del Guacchio, Bureš, Iamónico & P. Caputo). Bu çalışmanın da konusu olan ebeveyn türler Del Guacchio vd. (2022) tarafından *Lophiolepis* cinsi altında sınıflandırılmıştır. Söz konusu çalışmada kullanılan diziler gen bankasından iki çekirdek ve beş plastid DNA bölgesine dayanılarak alınmıştır. Bunların cins içindeki filogenetik çözümleme için yetersiz olduğu rapor edilmiştir (Moreyra vd. 2023). Yine Moreyra vd. (2023)’e göre *Cirsium*’un tek bir cins olarak korunması aynı zamanda en sağlam ve pratik yaklaşımdır. Bunun nedeni, *Cirsium*’un zaten yaygın olan eş anlamlılığını daha da arttıracak yüzlerce yeni isimlendirme kombinasyonunun ortaya çıkmasının engellenmesidir. Bu bağlamda yapmış olduğumuz çalışmada Moreyra vd. (2023)’nin önerisi üzerine burada tanımlanan hibritin (*Cirsium* × *giresunicum*) ve ebeveynleri olan *C. poluninii* ve *C. trachylepis* türlerinin *Cirsium* cinsi altında yer almasının daha uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

### Taksonların Gen Bankası Erişim Kodları

*Carduus acanthoides* (JX867641), *Carduus adpressus* (KT013056), *Cirsium cephalotes* (MK298354, MK298355, MK398356, MK298358, MK298359, MK298360), *C. echinus* (MK298362), *C. × erzincanicum* (MK298344, MK298353), *C. × kelkitense* (MK298337, MK298338, MK298339), *C. leucocephalum* (MK298340, MK298341, MK298342, MK298343, MK298348, MK298349, MK298350, MK298351, MK298352), *C. macrobotrys* (MK298345, MK298346, MK29834), *C. × nezaketiae* (MK298357), *C. obvallatum* (MN335092), *C. rhizocephalum* (MN335055), *C. trachylepis* (MN918966, OR678381, OR678382, OR678383, OR678384), *C. × giresunicum* (OR678385, OR678386, OR678387, OR678388, OR678389), *Tyrimnus leucographus* (AY826343), SUB13902323 *C. poluninii* (OR678374, OR678375, OR678376, OR678377, OR678378, OR678379).

**TEŞEKKÜR**

Bu projenin moleküler çalışmaları Balıkesir Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi 2021/012 numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışma, Veysel Uzun'un doktora tezi kapsamındaki verilerden üretilmiştir.

**YAZAR KATKI BEYANI**

Bu makalede; çalışma fikri ve tasarımı, veri toplama, sonuçların analizi ve yorumlanması, makale taslağının yazımı aşamaları yazarlar tarafından ortak yapılmıştır. Yazarlar sonuçları gözden geçirmiş, baskı öncesi makalenin son halini kontrol etmiş ve onaylamıştır.

**KAYNAKLAR**

- Ackerfield, J., Susanna, A., Funk, V., Kelch, D., Park, D.S., Thornhill, A.H., Yıldız, B., Arabacı, T. & Dirmenci, T. (2020). A prickly puzzle: generic delimitations in the *Carduus-Cirsium* group (Compositae: Cardueae: Carduinae). *Taxon* 69: 715–738. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.12288>.
- Arabacı, T., Çelenk, S., Özcan, T., Martin, E., Yazıcı, T., Açar, M., Üzel, D. & Dirmenci, T. (2021). Homoploid hybrids of *Origanum* (Lamiaceae) in Turkey: morphological and molecular evidence for a new hybrid. *Plant Biosyst* 155(3): 470–482. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1762777>.
- Bureš, P., Wang, YF., Horova, L. & Suda, J. (2004). Genome size variation in Central European species of *Cirsium* (Compositae) and their natural hybrids. *Ann Bot-London* 94: 353–363. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mch151>.
- Bureš, P., Smerda, J., Michalkova, E., Smerda, P., Knoll, A. & Vavrinec, M. (2018). *Cirsium greimleri*: a new species of thistle endemic to the Eastern Alps and Dinarides. *Preslia* 90: 105–134. DOI: <https://doi.org/10.23855/preslia.2018.105>.
- Bureš, P., Özcan, M., Šmerda, J., Michálková, E., Horová, L., Plačková, K., Šmerda, P., Elliott, T. L., Veselý, P., Čato, S., Norouzi, M., Sheidai, M. & Zedek F. (2023). Evolution of genome size and GC content in the tribe Carduinae (Asteraceae): rare descending dysploidy and polyploidy, limited environmental control and strong phylogenetic signal. *Preslia* 95: 185–213. DOI: <https://doi.org/10.23855/preslia.2023.185>.
- Charadze, A.L. (1963). [*Cirsium* Mill.] In: Bobrov, E.G. & Cherepanov, S.K. (Eds.). *Flora of the USSR*. Vol. 28. Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moscow, pp. 63–270.
- Cattaneo, C. & Dirmenci, T. (2022). A new hybrid of the genus *Origanum* L. (Lamiaceae): *Origanum* × *symes* Carlström. *Istanbul Journal of Pharmacy* 52 (2): 1–6. DOI: <https://doi.org/10.26650/istanbulJPharm.2022.1034352>.
- Cattaneo, C., Dimarchou, T., Özcan, T. & Dirmenci T. (2022). A new hybrid of *Origanum* (Lamiaceae) from the Aegean Island of Karpathos (Dodecanese, Greece): *Origanum* × *karpathicum*. *Phytotaxa* 560(1):43–56. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.560.1.3>.
- Davis, P.H. & Parris, S.B. (1975). [*Cirsium* Mill.] In: Davis, P.H. (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 5. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 370–412.
- Del Guacchio, E., Bureš, P., Iamónico, D., Carucci, F., De Luca, D., Zedek, F. & Caputo, P. (2022). Towards a monophyletic classification of Cardueae: restoration of the genus *Lophiolepis* (=

- Cirsium* pp) and new circumscription of *Epitrachys*. *Plant Biosyst* 156(5): 1269–1290. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2022.2131924>.
- Dirmenci, T., Yazıcı, T., Özcan, T., Çelenk, S. & Martin, E. (2018). A new species and a new natural hybrid of *Origanum* L. (Lamiaceae) from the west of Turkey. *Turk J Bot* 42(1): 73–90. DOI: <https://doi.org/10.3906/bot-1704-35>.
- Dirmenci, T., Özcan, T., Arabacı, T., Çelenk, S., İsmayilova, G. & Yıldız, B. (2019). Hybridization among three *Cirsium* (Asteraceae) species and important evidence for three new hybrids from Turkey. *Turk J Bot* 43(3): 366–385. DOI: <https://doi.org/10.3906/bot-1806-53>.
- Dirmenci, T., Duman, H. & Arabacı, T. (2020). Türkiye’den yeni bir Köygöçüren [*Cirsium* Mill. (Papatyagiller / Asteraceae)] türü ve cinsin şüpheli bir türünün yeniden keşfi. *Bağbahçe Bilim Dergisi* 7(3): 35–44.
- Duman, H., Tugay, O., Dirmenci, T. & Ertuğrul, K. (2017). A new species of *Cirsium* sect. *Epitrachys* (Asteraceae:Cardueae) from the south of Turkey. *Turk J Bot* 41(4): 375–382. DOI: <https://10.3906/bot-1612-33>.
- 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.
- Kang, S., Choi, B. & Jang, T. S. (2021). Chromosome evolution in Korean *Carduus-Cirsium* taxa (Asteraceae). *Cytologia* 86(4): 375–384. DOI: <https://doi.org/10.1508/cytologia.86.375>.
- Kadereit, J.W. & Jeffrey, C. (2007). *The Families and Genera of Vascular Plants*. Vol. 8. Springer, Berlin, pp. 131–132.
- Kelch, D.G. & Baldwin, B.G. (2003). Phylogeny and ecological radiation of New World thistles (*Cirsium*, Cardueae–Compositae) based on ITS and ETS rDNA sequence data. *Mol Ecol* 12(1): 141–151. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01710.x>.
- Miller, M., Pfeiffer, W.T. & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop* pp. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.
- Moreyra, L.D., Garcia-Jacas, N., Roquet, C., Ackerfield, J.R., Arabacı, T., Blanco-Gavaldà, C., Brochmann, C., Calleja, J.A., Dirmenci, T., Fujikawa, K., Galbany-Casals, M., Gao, T., Gizaw, A., López-Alvarado, J., Mehregan, I., Vilatersana, R., Yıldız, B., Leliaert, F., Seregin, A.P. & Susanna, A. (2023). African mountain thistles: three new genera in the *Carduus-Cirsium* group. *Plants* 12(17): 3083. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12173083>.
- Nouroozi, M., Sheidai, M., Attar, F. & Noormohammadi, Z. (2012). Pollen morphological studies on the genus *Cirsium* Mill. (Asteraceae) in Iran. *Jpn J Bot* 87(4): 272–283.
- Petrak, F. (1979). [*Cirsium* Mill.] In: Rechinger, K.H. (Ed.). *Flora Iranica. Compositae III-Cynareae*. Vol. 139a. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz, pp. 231–280.
- POWO (2023). Plants of the World Online. <https://powo.science.kew.org/> [23.10.2023].
- Segarra-Moragues, J.G., Villar, L., Lopez, J., Perez-Collazos, E. & Catalan, P. (2007). A new Pyrenean hybrid *Cirsium* (Asteraceae) as revealed by morphological and molecular analyses. *Bot J Linn Soc* 154(3): 421–434. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2007.00668.x>.
- Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E. & Small, R.L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *Am J Bot* 94(3): 275–288. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>.

- Slotta, T.A.B., Horvath, D.P. & Foley, M.E. (2012). Phylogeny of *Cirsium* spp. in North America: host specificity does not follow phylogeny. *Plants* 1(2): 61–73. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants1020061>.
- Stanford, A.M., Harden, R. & Parks, C.R. (2000). Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglandaceae) based on matK and ITS sequence data. *Am J Bot* 87(6): 872–882. DOI: <https://doi.org/10.2307/2656895>.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. & Gibson, T.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressing multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22(22): 4673–4680. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>.
- Werner, K. (1976). [*Cirsium* Mill.] In: Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.). *Flora Europaea*. Vol. 4. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 232–242.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). [Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics] In: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. & White, T. (Eds.). *PCR Protocols: A guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, pp. 315–322. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>.
- Yıldız, B. (2012). [*Cirsium* Mill.] In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, T. (Eds.). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, pp. 141–146.
- Yıldız, B., Arabacı, T., Dirmenci, T. & Köstekçi, S. (2016). A taxonomic revision of the genus *Cirsium* Mill. sect. *Cirsium* (Asteraceae: Cardueae) in Turkey. *Turk J Bot* 40(5): 514–530. DOI: <https://doi.org/10.3906/bot-1503-35>.
- Zhou, X., Ma, J., Wang, W., Gong, N., Zhang, Y. & Liu, J. (2010). Genome size of the diploid hybrid species *hippophae goniocarpa* and its parental species, *H. rhamnoides ssp. sinensis* and *H. neurocarpa ssp. neurocarpa* (Elaeagnaceae). *Acta Biologica Cracoviensia - Series Botanica* 52(2): 12–16 DOI: <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0018-4>.