

ISSN 1308-5301 Print
ISSN 1308-8084 Online

Biological Diversity and Conservation

CİLT / VOLUME 13

SAYI / ISSUE 2

AĞUSTOS / AUGUST 2020

Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma Üzerine Yayın Yapan Hakemli Uluslararası Bir Dergidir
An International Journal is About Biological Diversity and Conservation With Refree



BioDiCon
Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma
Biological Diversity and Conservation

Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma Üzerine Yayın Yapan Hakemli Uluslararası Bir Dergidir
An International Journal is About Biological Diversity and Conservation With Refree
Cilt / Volume **13**, Sayı / Issue **2**, Ağustos / August **2020**

Editör / *Editor-in-Chief*: Ersin YÜCEL

ISSN 1308-5301 Print; ISSN 1308-8084 Online

Açıklama

"Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma" dergisi, bağımsız, tarafsız ve çift-kör akran değerlendirme ilkelerine uygun olarak yayın yapan uluslararası, bilimsel, çevrimiçi ve basılı bir dergidir. Bu dergi biyolojik çeşitlilik ve koruma üzerine yayın yapan hakemli uluslararası bir dergidir. "Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma" dergisinde biyolojik çeşitliliğin tüm yönleriyle ilgili deneysel çalışmalar, orijinal makaleler, mevcut konular hakkında inceleme, vaka raporları, editör yorumları ve etik kurallara uygun olarak hazırlanan editöre mektuplar yayınlamaktadır. Bu dergi biyolojik çeşitlilik, biyoteknoloji, botanik, çevre bilimleri, organizmalar, ekoloji, etnobotanik, farmakoloji, genetik, gıda, koruma, mikroorganizmalar, ormancılık, tarım, tehlike altındaki habitatlar, tehlike altındaki türler, tıbbi bitkiler, tıp, zooloji üzerine yapılmış araştırmaları kabul eder. Açıklayıcı araştırma soruları sunan betimsel veya deneysel çalışmalar kabul edilir. Derginin yayın dili İngilizce ve Türkçe'dir. Yayınlanma yeri Türkiye'dir. Bu dergi yılda üç sayı yayınlanır.

Description

"Biological Diversity and Conservation" journal is an international, scientific, online and print journal published in accordance with independent, unbiased, and double-blinded peer-review principles. This journal is an international journal, about biological diversity and conservation with refree. "Biological Diversity and Conservation" publishes experimental studies on all aspects of biological diversity, original manuscripts, reviews on current topics, case reports, editorial comments and letters to the editor that are prepared in accordance with the ethical guidelines. This journal accepts research on biological diversity, biotechnology, botanic, conservation, ecology, endangered habitats, endangered species, environmental science, ethnobotany, farming, food, forestry, genetics, medicinal plants, medicine, microorganisms, other organisms, pharmacology, zoology. Descriptive or experimental studies presenting clear research questions are accepted. Manuscripts in English or in Turkish languages are welcome. Printed in Turkey. This journal is published triannually.

Dergiyi tarayan veri tabanları / Abstracted-Indexed in

Turkey Citation Index, Clarivate Analytics Zoological Record, CiteFactor, Index Copernicus, JournalSeek Database, arastirmax.

Kütüphaneler / Libraries

Aberystwyth University; All libraries; Bath University; Birmingham University; Cardiff University ;City University London; CONSER (Not UK Holdings); Edinburgh University; Essex University; Exeter University; EZB Electronic Journals Library; Feng Chia University Library; GAZİ Gazi University Library; Glasgow University; HEC-National Digital Library; Hull University; Imperial College London; Kaohsiung Medical University Library; ANKOS; KYBELE Anadolu University Library; Lancaster University; Libros PDF; Liverpool University; London Metropolitan University; London School of Economics and Political Science; Manchester University; National Cheng Kung University Library; National ILAN University Library; Nottingham University; Open University; Oxford University; Queen Mary, University of London; Robert Gordon University; Royal Botanic Gardens, Kew; Sheffield Hallam University; Sheffield University; Shih Hsin University Library; Smithsonian Institution Libraries; Southampton University; Stirling University; Strathclyde University; Sussex University; The National Agricultural Library (NAL); The Ohio Library and Information NetWork; Trinity College Dublin; University of Washington Libraries; Vaughan Memorial Library; York University..

Clarivate Analytics, Zoological Record Impact Factor, 5.00

"Türkiye Atf Dizini"ne kayıtlıdır. (**This journal is registered to "Turkey Citation Index"**)

Bu dergi Crossref üyesidir. (**This journal is a CrossRef member**)

Makale yazım kuralları ve dergi ile ilgili diğer ayrıntılar için " [http:// www.biodicon.com](http://www.biodicon.com)" adresini ziyaret ediniz / *Please visit " [http:// www.biodicon.com](http://www.biodicon.com)" for instructions about articles and all of the details about journal*

Yazışma Adresi / Correspondance Adres: Prof. Ersin YÜCEL, P.K. 86, İki Eylül PTT Merkez, 26000 Eskişehir / Turkey
E-posta / E-mail : biodicon@gmail.com ; **Web Address:** <http://www.biodicon.com>

<https://dergipark.org.tr/en/pub/biodicon>

Baş editör yardımcısı/ Deputy Editor in Chief

Abdeslam ENNABİLİ; Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Superior School of Technology (GP), BP 2427 Route d'Imouzer 30000 Fez Morocco
E-mail: aennabili@gmail.com

E-mail: mkursat@beu.edu.tr

İlkin YÜCEL ŞENGÜN

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Izmir, Turkey
E-mail: ilkinyucel@yahoo.com

Murat OLGUN; Eskişehir Osmangazi University, Department of Field Crops, Eskişehir, Turkey
E-mail: molgun@ogu.edu.tr

Associate Editors

Münir ÖZTÜRK; Ege University, Botany Department and Centre for Environmental Studies, Izmir- 35040, Turkey
E-mail: munirozturk@gmail.com

Adife ŞEYDA YARGIÇ; Bilecik Şeyh Edebali University, Department of Chemical Engineering, Bilecik, Turkey
E-mail: seyda.guler@bilecik.edu.tr

Naime ARSLAN; Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Arts and Sciences, Meşelik Campus, Eskişehir, Turkey
E-mail: oligo2009@gmail.com

Birgül YELKEN; Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Eskişehir, Turkey
E-mail: birgulby@yahoo.com

Ahmed BAKRIM; Université Sultan Moulay Slimane, Faculté Polydisciplinaire de Khouribga, Morocco
E-mail: bakrim78@yahoo.fr

Muhsin KONUK; Üsküdar University, Engineering and Natural Sciences, Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Turkey
E-mail: mkonuk@gmail.com

İsmühan POTOĞLU ERKARA; Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Arts and Sciences, Eskişehir, Turkey
E-mail: endo@gianlucaplotino.com

Aykut GÜVENSEN; Ege University, Science Faculty, Department of Biology, Izmir, Turkey
E-mail: aykut.guvsen@ege.edu.tr

Atila OCAK; Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Arts and Sciences, Eskişehir, Turkey
E-mail: atilaocak@gmail.com

Ignacy KITOWSKI; State School of Higher Education in Chelm, Institute of Agricultural Sciences, Chelm, Poland
E-mail: kitowign@biotop.umcs.lublin.pl

Ayşe AK; Erzincan Binali Yıldırım University, Engineering Faculty, Biomedical Engineering Department, Erzincan, Turkey
E-mail: a_ak@hotmail.com

Salman KHAN Forest Entomology Division, Forest Research Institute, P.O. New Forest Dehradun, Uttarkhand, India
E-mail: salman1315@gmail.com

Latif KURT; Ankara University, Science Faculty, Department of Biology, Ankara, Turkey
E-mail: kurt@.ankara.edu.tr

Ayşe DELİGÖZ; Department of Forest Engineering, Faculty of Forestry, Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey
E-mail: aysedeligoz@isparta.edu.tr

Semra AYDIN; Turkish Medicine and Medical Devices Agency, Department of Biotechnological Drug, Ankara, Turkey
E-mail: semrasoydam@gmail.com

Lyutsiya AUBAKIROVA; Lev Nikolaevich Gumilev Eurasian National University, Astana, Kazakhstan
E-mail: bls758@rambler.ru

Carmen Galán SOLDEVILLA; University of Bristol, Organic and Biological Chemistry, Bristol, England
E-mail: m.c.galan@bristol.ac.uk

Shyam Singh YADAV; Indian Agricultural Research Institute, Division of Genetics, New Delhi, India
E-mail: shyamsinghyadav@yahoo.com

M. Angeles Alonso VARGAS; University of Alicante, Department of Environmental Sciences and Natural Resources, Alicante, Spain
E-mail: ma.alonso@ua.es

Dalila BOUSTA; University of Sidi Mohamed Ben Abdellah, Laboratory of Neuroendocrinology, Nutritional and Climatic Environment, Fez, Morocco
E-mail: Dalila_bousta@yahoo.fr

Snejana DONCHEVA; Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Plant Physiology, Sofia, Bulgaria
E-mail: doncheva@obzor.bio21.bas.bg

M.N.V. PRASAD; University of Hyderabad, Department of Plant Sciences, Hyderabad, India
E-mail: mnvsl@uohyd.ernet.in

Dani SARSEKOVA; S.Seifullin Kazakh Agro Technical University, Department of Forestry, Astana
E-mail: dani999@mail.ru

Tamara SEDELNİKOVA; Department of Forestry, V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Federal Research Center Russia, 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/28
E-mail: tss@ksc.krasn.ru

Masoud HEDAYATIFARD; Islamic Azad University, Department of Fisheries, College of Agriculture, Iran
E-mail: hedayati.m@qaemiau.ac.ir

Dimitris P. VASILAKIS; University of Patras, Department of Environmental and Natural Resources Manag., Patras, Greece
E-mail: vkati@upatras.gr

Tarmo TİMM; Estonian University of Life Sciences, Faculty of Agriculture and Environment, Rannu 61117, Estonia
E-mail: tarmo.timm@emu.ee

Sezgin AYAN; Kastamonu University, Faculty of Forestry, Kastamonu, Turkey
E-mail: sezginayan@kastamonu.edu.tr

Elif YAMAÇ; Eskişehir Technical University, Science Faculty, Department of Biology, Eskişehir, Turkey
E-mail: eerdogdu@eskisehir.edu.tr

Victoria RODİNKOVA; National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, 56, Pirogov Street, Ukraine
E-mail: vikarodi@gmail.com

Stefano VALDESALICI; Associazione Italiana Killifish, Emilia-Romagna, Italy
E-mail: valdesalici.stefano@gmail.com, valdekil@tin.it

E. Selcen DARÇIN; Gazi University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, Ankara, Turkey
E-mail: darcin@gazi.edu.tr

Language Editors

Elif ÖZTETİK; Eskişehir Technical University, Faculty of Sciences, Department of Biology, Tepebaşı / Eskişehir-Turkey
E-mail: eoztetik@eskisehir.edu.tr

Zeki AYTAÇ; University of Gazi, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey
E-mail: zaytac@gazi.edu.tr

Emel SÖZEN; Eskişehir Technical University, Faculty of Sciences, Department of Biology, Tepebaşı / Eskişehir-Turkey
E-mail: esozen@eskisehir.edu.tr

Okan SEZER; Eskişehir Osmangazi Univ, Depart. of Biology, Eskişehir/Turkey
E-mail: okanszr@gmail.com

Statistical Editor

Alper YARGIÇ; Bilecik Şeyh Edebali University, Computer Engineering, Bilecik, Turkey
E-mail: ayargic@gmail.com

Fahrettin AKYÜZ; Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Medical Biochemistry, Eskişehir, Turkey
E-mail: fakuz@ogu.edu.tr

Marjan KOMNENOV; University of Novi Sad, Department of Biology and Ecology, Serbia
E-mail: mkommenov@gmail.com

Alan editörleri/ Field Editors

Murat KÜRŞAT; Bitlis Eren University, Faculty of Arts and Sciences Biology, Bitlis, Turkey

Hakemler/ Reviewer

Abdullah Altunışık, Rize (Turkey)
Ahmed Bakrim, Kbouribga (Morocco)
Ahmet Aksoy, Antalya (Turkey)
Ahmet Mert, Isparta (Turkey)
Ali Dönmez, Ankara (Turkey)
Ali Kandemir, Erzincan (Turkey)
Amed Aarab Azmani, Tangier (Morocco)
Anath Bandhu Das Ankara (Turkey)
Arif Cemal Özsemir (Bafra) (Turkey)
Arzu Morkoyunlu Yüce Kocaeli (Turkey)
Atilla Ocak, Eskişehir (Turkey)
Ayçin Akunal, Konya (Turkey)
Ayçin Yılmaz, Konya (Turkey)
Ayla Kaya, Eskişehir (Turkey)
Aysel Bekleyen, Diyarbakır (Turkey)
Ayşe Kaplan, Sivas (Turkey)
Ayşen Türk, Eskişehir (Turkey)
Aziz Türkoğlu, Muğla (Turkey)
Barış BANİ, Kastamonu (Turkey)
Betül Gıdık, Bayburt (Turkey)
Betül Y. Öztürk, Eskişehir (Turkey)
Burak Arıca, Kastamonu (Turkey)
Burcu Yılmaz Çıtak, Konya (Turkey)
Bülent Turgut, Artvin (Turkey)
Cahit Doğan, Ankara (Turkey)
Carmen Galán Soldevilla, Cordoba (Spain)
Cem Dalyan, İstanbul (Turkey)
Cemil Ata, İstanbul (Turkey)
Cengiz Acar, Trabzon (Turkey)
Cihangir Kirazlı, Bolu (Turkey)
Çiler Meriç, Trakya (Turkey)
Dalila Boust, Taounate (Morocco)
Dani Sarsekova, S. Seifullin (Kazakistan)
Deniz Ergüden, İskenderun (Turkey)
Derya Yıldırım, Isparta (Turkey)
Duran Katar, Eskişehir (Turkey)
Emel Uslu, Bolu (Turkey)
Emre Sevindik, Aydın (Turkey)
Erdoğan Atmış, Bartın (Turkey)
Ergin Hamzaoğlu, Ankara (Turkey)
Erhan Çalışkan, Trabzon (Turkey)
Ernaz Altundağ, Düzce (Turkey)
Ersin Demirel, Antakya (Turkey)
Ersin Karabacak, Çanakkale (Turkey)
Esat Çetin, Sakarya (Turkey)
Esra Martin, Konya (Turkey)
Fahrettin Tilki, Artvin (Turkey)
Faik Ceylan, Kahramanmaraş (Turkey)
Faruk Selçuk, Kırşehir (Turkey)
Fatih Satıl, Balıkesir (Turkey)
Fatih Temel, Artvin (Turkey)
Fatma Kandemir Çevik, Adana (Turkey)
Fatma Koyuncu, Eskişehir (Turkey)
Fatmagül Geven, Ankara (Turkey)
Fazle Subhan, Peshawar, (Pakistan)
Ferhat Altunsoy, Eskişehir (Turkey)
Feyza Candan, Manisa (Turkey)
Filiz Savaroğlu, Eskişehir (Turkey)
Filiz Yılmaz, Eskişehir (Turkey)
Gencay Akgül, Nevşehir, (Turkey)
Gökhan Abay, Çankırı (Turkey)

Gözde-Elgin Cebe, İzmir (Turkey)
Gülçin Işık, Eskişehir (Turkey)
Gülriş Bayçu, İstanbul (Turkey)
Gülşen Kendir, İstanbul (Turkey)
Gülşah Özyiğitoğlu, İstanbul (Turkey)
H. Barış Özel, Bartın (Turkey)
H. Askin Akpulat, Erzurum (Turkey)
Haider Abbas, Karachi (Pakistan)
Halil Koç, Sinop (Turkey)
Hamdi Aydın, Kocaeli (Turkey)
Handan Ucu Öz, Bartın (Turkey)
Hasan Akan, Şanlıurfa (Turkey)
Hasan Akgül, Gaziantep (Turkey)
Hasan Korkmaz, Elazığ (Turkey)
Hasan Özçelik, Isparta (Turkey)
Hatice Kiremit Özenoğlu, Aydın (Turkey)
Hatice Nurhan Büyükkartal, Ankara (Turkey)
Hayri Duman, Ankara (Turkey)
Hülya Altuntaş, Eskişehir (Turkey)
Hüseyin Dural, Konya (Turkey)
Ihsan A. Al-Shehbaz, Missouri (USA)
İlgaz Akata, Ankara (Turkey)
İltif Ullah , Nowshera (Pakistan)
İbrahim Turna, Trabzon (Turkey)
İbrahim Türkel, Tokat (Turkey)
İlker Avan, Eskişehir (Turkey)
İnci Kravkaz, Kastamonu (Turkey)
İrfan Albayrak, Kırkkale (Turkey)
İsa Başköse, Ankara (Turkey)
Kadriye Uruç Parlak, Ağrı (Turkey)
Kamil Koç, Manisa (Turkey)
Kerim Çiçek, İzmir (Turkey)
Khalid M. Khawar, Ankara (Turkey)
M. Ufuk Özbek, Ankara (Turkey)
Malik Faisal, İslamabad (Pakistan)
Manzoor Ahmad, İslamabad (Pakistan)
Marjan Komnenov, Skopje (Macedonia)
Maryam Keshavarzi, Tehran (Iran)
Mehmet Burçin Mutlu, Eskişehir (Turkey)
Mehmet Candan, Eskişehir (Turkey)
Mehmet Sağıroğlu, Sakarya (Turkey)
Mehmet Sincik, Bursa (Turkey)
Mehmet Tekin Sivas (Turkey)
Mehmet Zülfi Yıldız, İzmir (Turkey)
Menderes Çenet, Osmaniye (Turkey)
Meral Yılmaz Cankılıç, Eskişehir (Turkey)
Mesut Kırmacı, Aydın (Turkey)
Metin Armağan, Aydın (Turkey)
Mohammed Merzouki, Fez (Morocco)
Muammer Bahşi, Elazığ (Turkey)
Muhammad Sarwar, Jam (Pakistan)
Muhammad Yasin Ashraf, (Pakistan)
Muhittin Dinç, Konya (Turkey)
Murat Alan, Karabük (Turkey)
Murat Kuşat, Bitlis (Turkey)
Mustafa Yamaç, Eskişehir (Turkey)
Mutlu Gültepe, Giresun (Turkey)
Müge Sayitoğlu, İstanbul (Turkey)
Nalan Yılmaz Sarıöz, Eskişehir (Turkey)
Naşit İğci, Nevşehir (Turkey)
Necdet Değermenci, Kastamonu (Turkey)
Nesil Ertoran, Eskişehir (Turkey)
Nilsun Demir, Ankara (Turkey)

Nurcan Yiğit, Kastamonu (Turkey)
Nurdilek Gülmezoğlu, Eskişehir (Turkey)
Nurhayat Dalkıran, Bursa (Turkey)
Nuri Öner, Çankırı (Turkey)
Nursel Aşan Baydemir, Kırkkale (Turkey)
Nursel Aşan Baydemir, Kırkkale (Turkey)
Oğuzhan Kaygusuz, Denizli (Turkey)
Olga Sak, Balıkesir (Turkey)
Onur Koyuncu, Eskişehir (Turkey)
Ömer Koray Yaylacı, Eskişehir (Turkey)
Özgür Emiroğlu, Eskişehir (Turkey)
Rasime Demirel, Eskişehir (Turkey)
Recep Sulhi Özkütük, Eskişehir (Turkey)
Rıza Binzet, Mersin (Turkey)
Robert Angus, London (England)
Saleem Ahmad, İslamabad (Pakistan)
Salman Khan, Uttarkhand (India)
Saye Nihan Çabuk, Eskişehir (Turkey)
Seda Erkan Buğday, Kastamonu (Turkey)
Seher Karaman Erkul, Aksaray (Turkey)
Selami Selvi, Balıkesir (Turkey)
Selima Khatun, West Bengal (India)
Serap Pulatsü, Ankara (Turkey)
Serdar Aslan, Düzce (Turkey)
Serdar Gökhan Şenol, İzmir (Turkey)
Serdar Makbul, Rize (Turkey)
Serkan Gülsoy, Isparta (Turkey)
Sevda Kırbag, Elazığ (Turkey)
Seyit Ahmet Sargın, Alanya (Turkey)
Sezgin Çelik, İstanbul (Turkey)
Sezgin Özden, Çankırı (Turkey)
Shyam Singh Yadav, Lae (New Guinea)
Sinan Güner, Artvin (Turkey)
Snejana Doncheva, Sofia (Bulgaria)
Sumaira Sahren, İslamabad (Pakistan)
Sunil Kumarkhan, Magra, Hooghly (India)
Şahane F. Arslanoğlu, Samsun (Turkey)
Şengül Aksan, Akseki-Antalya (Turkey)
Şeniz Karabıyıklı, Tokat (Turkey)
Tahir Atıcı, Ankara (Turkey)
Tamer Keçeli, Çankırı (Turkey)
Taner Özcan, Balıkesir (Turkey)
Tarkan Yorulmaz, Çankırı (Turkey)
Temel Özek, Eskişehir (Turkey)
Tuğba Bayrak Özbucak, Ordu (Turkey)
Turan Arabacı, Malatya (Turkey)
Turgay Dindaroğlu, K. Maraş (Turkey)
Tülay Ezer, Niğde (Turkey)
Ufuk Coşgun, Karabük (Turkey)
Ümit Subaşı, İzmir (Turkey)
Ümit Şirin, Eskişehir (Turkey)
Ünal Öznelmas, Eskişehir (Turkey)
Volkan Altay, Hatay (Turkey)
Yavuz Bülent Köse, Eskişehir (Turkey)
Yeşim Dağhoğlu, Ordu (Turkey)
Yeşim Kara, Denizli (Turkey)
Yusuf Uzun, Van (Turkey) (Turkey)
Zafer Ölmez, Artvin (Turkey)
Zafer Yücesan, Trabzon (Turkey)
Zekiye Kocakaya, Yozgat (Turkey)
Zeynel Arslangündoğdu, İstanbul (Turkey)
Zia Ullah, Beijing (China)

Genel Yayın Yönetmeni/Executive Editor: İlkin YÜCEL ŞENGÜN, Mine YÜCEL**Editörlük Ofisi/Editorial Office:** Yasemin YÜCEL, Umut KILINÇ**Kapak Resmi/ Cover Image::** Ersin YÜCEL**Baskı/Printing Press:** Cetemenler, Eskişehir/Turkey;**Kapak Düzeni/ Cover Layout:** Dilge YÜCEL, Mine YÜCEL**Dizgi/Compositor:** Dilge YÜCEL, Mine YÜCEL, Umut KILINÇ**Web Consultant:** Alper YARGIÇ, Didem AYDAN, Gülsultan ÇAVUŞOĞLU



Determination of herbicide degradation potentials of bacteria isolated from glyphosate applied soil

Cemal KURTOĞLU ^{*1}, Faik CEYLAN ², Sabahattin CÖMERTPAY ¹, İsmail AKYOL ³
ORCID: 0000-0001-5690-5739; 0000-0001-6740-3259; 0000-0003-4850-6927; 0000-0001-8856-0018

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fak., Tarımsal Biyoteknoloji Böl., 46050 Kahramanmaraş, Turkey

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Orman Fak., Orman Mühendisliği Böl., 46050 Kahramanmaraş, Turkey

³Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Ankara, 06110 Turkey

Abstract

Glyphosate (N-phosphonomethylglycine) is a synthetic and non-selective herbicide carrying a stable carbon-phosphate bond (C-P). Although glyphosate residues in the soil are known to have harmful effects on the environment and human health, soil bacteria that use and break down herbicides as a food source are used to reduce these harmful effects. In this study, it was aimed to identify the bacteria isolated from glyphosate-treated agricultural land, belonging to Kahramanmaraş Sütçü İmam University, and to determine their potential to degrade this herbicide. The bacterial colonies to be used for this purpose were obtained by serial selections and the species were identified by using region sequencing and/or protein-based identification through MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight) methods. Afterwards, these bacteria were grown in medium containing no carbon source other than 0.1g/L, 0.5g/L and 1g/L of glyphosate, and their absorbance at 600 nm was measured on the 14. day to determine their growth rate. Besides, in order to determine the glyphosate degradation capabilities of these bacteria; the amount of glyphosate remaining in the medium was determined by measuring the absorbance at 570 nm at the end of the same period. Obtained results revealed that none of the isolated bacteria could degrade glyphosate, that glyphosate negatively affected the growth of some bacteria, and that bacteria with the highest growth in the glyphosate-containing medium were *Klebsiella variicola* and *Klebsiella pneumoniae*.

Key words: glyphosate, soil bacteria, molecular identification, degradation

----- * -----

Glifosat uygulanmış topraktan izole edilen bakterilerin herbisit degradasyon potansiyellerinin belirlenmesi

Özet

Glifosat (N-fosfonometilglisin), kararlı karbon-fosfat (C-P) bağlı, sentetik ve seçici olmayan bir herbisittir. Topraktaki glifosat kalıntılarının çevre ve insan sağlığına zararlı etkileri olduğu bilinmekle birlikte, herbisitleri besin olarak kullanıp parçalanmasını sağlayan toprak bakterilerinden bu zararlı etkileri azaltmak için yararlanılmaktadır. Bu çalışmada, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi'ne ait, glifosat ile muamele edilmiş tarım arazisinden izole edilen bakterilerin tanımlanması ve bu herbisiti degrade etme potansiyellerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kullanılacak bakteri kolonileri seri seçimlerle elde edilmiş ve gen bölgesi sekanslaması ve/veya proteine dayalı tanımlama yapan MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight) yöntemleri kullanılarak elde edilen bakterilerin tür tanımlanması yapılmıştır. Sonrasında, bu bakteriler 0.1g/L, 0.5g/L ve 1g/L glifosat dışında başka karbon kaynağı içermeyen besiyeri içerisinde yetiştirilmiş ve büyüme hızlarının belirlenmesi için 14. günde 600 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Ayrıca, bakterilerin glifosat degradasyon yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla; besiyerlerinde kalan glifosat miktarları, aynı süre sonunda 570 nm'de absorbanslarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar; izole edilen bakterilerin hiçbirinin glifosatu degrade edemediğini, glifosatın bazı bakterilerin büyümesini olumsuz yönde etkilediğini ve glifosat içeren ortamda büyüme miktarı en yüksek olan bakterilerin *Klebsiella variicola* ve *Klebsiella pneumoniae* olduğunu ortaya koymuştur.

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905533818267; Fax.: +905533818267; E-mail: cemalkurtoglu93@hotmail.com

Anahtar kelimeler: glifosat, toprak bakterileri, moleküler tanımlama, degradasyon

1. Giriş

Tarımsal ürünlerde verim kaybı, artan dünya nüfusunun yeterli beslenebilmesi için üstesinden gelinmesi gereken önemli sorunlardan birisidir. Bu sorunun çözümünde kullanılan zirai mücadele yöntemlerinden en yaygın olanı tarım ilacı kullanımıdır. Tarım ilaçlarından dünya genelinde en çok kullanılanı ise herbisitlerdir [1]. Tarımsal olarak yetiştirilen bitkiler ile su, ışık, bitki besin elementleri ve alan bakımından rekabet eden ve bu sebeple verim kayıplarına neden olan yabancı otlar çeşitli herbisitlerin kullanımıyla alandan uzaklaştırılmaktadırlar [2]. Ancak herbisitler, kullanım amaçlarının dışında pek çok soruna neden olabilmektedir. Bu sorunlar ile baş etmedeki etkili yöntemlerden birisi herbisitlerin mikrobiyal parçalanması yaklaşımıdır [3].

Toprağın büyük bir kısmını algler, funguslar ve bakterilerin bulunduğu çeşitli mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmaların topraktaki bazı herbisitleri besin kaynağı olarak kullanabildikleri ve böylece bu herbisitleri parçaladıkları bilinmektedir [4]. Kararlı karbon-fosfat (C-P) bağlı, sentetik ve seçici olmayan sistemik bir herbisit bileşiği olan glifosat [N-(fosfonometil) glisin] [5], tarım, silvikültür, kentsel alanlar ve bahçelerdeki yıllık ve çok yıllık yabancı otlara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır [6, 7, 8].

Glifosatın, diğer herbisitler ile kıyaslandığında daha güvenli olduğu düşünülmeyle birlikte yaygın kullanımının insanlar ve ekolojik çevre için tehlikeli olabileceği belirtilmektedir [9,10]. Bu bağlamda, insan idrar örneklerinde glifosat kalıntısının saptanması, insanların glifosat birikimine maruz kaldıklarının bir göstergesidir [11]. Örneğin, bazı çiftçiler ve aile bireyleri üzerinde yapılan bir çalışmada çiftçilerin %62'sinde, eşlerinin %4'ünde ve çocuklarının %12'sinde glifosata rastlandığı belirtilmiştir [12]. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Başkanlığı'nın 2017 yılı raporuna göre analiz edilen mısır örneklerinin %18'inde ve soya örneklerinin ise %40'ında glifosat kalıntısına rastlanmıştır [13]. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı tarafından glifosatın kanserojenik kontaminantlar içerdiği ve muhtemel kansere sebep olduğunu belirten "2A carcinogen" kategorisinde değerlendirilen bir kimyasal olduğu rapor edilmiştir [14]. Öte yandan, glifosatın uygun olmayan aşırı kullanımı sonucunda su ve toprakta birikmelerin meydana geldiği bildirilmektedir [15]. Bu nedenle, genellikle yer altı suları, yüzey suları ve erozyon ile taşınan topraklarda glifosat varlığı tespit edilebilmektedir [16]. Ayrıca, yüzey suları, sediment ve yeraltı sularında glifosatın ana metaboliti olan aminometil fosfonik asite (AMPA) de rastlanmaktadır [17], ve AMPA'nın insan eritrositlerini etkilediği *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmuştur [18].

Glifosatın biyotik veya abiyotik (sıcaklık, ışık degradasyonu) yaklaşımlarla bozunabileceği bilinmektedir. Ancak, glifosatın insan sağlığına olan etkilerini ve çevresel riskleri ortadan kaldırmak için özellikle çevre dostu, biyolojik iyileştirme stratejileri üzerinde durulmaktadır [19]. Bunlardan en önemlisi ise glifosat bozunumunu gerçekleştiren mikroorganizmaların kullanılmasıdır [20]. Bu amaçla yapılan pek çok çalışmada optimum şartlar sağlandığında, verimli glifosat bozunumu kabiliyeti sergileyebilen bakteriler tanımlanmıştır [21, 22].

Bu çalışmada; glifosat uygulanmış Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Avşar Kampüsü tarım arazisinden izole edilen bakterilerde glifosatu degrade etme yeteneğinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır. Buradan elde edilen sonuçların, glifosatın yarattığı çevresel kirliliğin önlenmesine katkı sunacağı düşünülmektedir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Biyolojik materyal

Bakteri izolasyonu için glifosat ile muamele edilmiş toprak örnekleri, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi'ne (37°35'29.3"N 36°49'27.6"E) ait tarım arazisinden, toprak yüzeyi yaklaşık 5 cm temizlenerek steril şartlarda alınmıştır.

2.2. MSM ve LB besiyeri hazırlanması

Mineral tuz besi ortamı (MSM, mineral salt medium) hazırlamak için 2 g amonyum sülfat ((NH₄)₂SO₄), 0.625 g potasyum fosfat (K₂HPO₄), 0.6 g sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄ 2H₂O), 0.2 g magnezyum sülfat (MgSO₄ 7H₂O) ve 0.15 g kalsiyum klorür (CaCl₂ 6H₂O) tartılarak saf su ile 1 litreye tamamlanmış ve pH'sı 7.0 olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamı 0.22 µm por çapında steril filtre kullanılarak sterilize edilmiştir.

LB besiyeri hazırlamak için 10 g triptofan, 5 g NaCl, ve 5 g maya özütü tartılarak saf su ile 1 litreye tamamlanmış ve 10 mL'lik tüplere paylaştırılmıştır. Agarlı besiyeri için MSM besiyerine % (w/v) 1.5 oranında agar ilave edilmiş ve 121 °C'de 15 dakika sterilizasyon yapılmıştır.

2.3. Toprakta bakteri izolasyonu

Herbisit uygulandığı bilinen arazilerin farklı yerlerinden toplamda 10 g kadar toprak alınmış ve bu örneğin 5 g'ı 50 mL sterilize edilmiş MSM içerisine konulmuştur. Bu karışıma, ayrıca, son derişimi 0.5 g/L olacak şekilde glifosat ilave edilmiş ve karışım 37°C'de 14 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben, 0.5 g/L glifosat içeren agarlı

MSM petripleri hazırlanmış ve inkübe edilen karışımdaki bakteriler bu petripler üzerine yayma yöntemi ile ekilmiştir. Gelişen koloniler koloni morfolojileri dikkate alınarak seçilmiş, sonrasında çizme yöntemi yapılarak saf koloniler elde edilmiştir. Koloni saflaştırma işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen saf bakteriler, alınan toprak örneği (X) ve elde edilen bakteri sayısı (Y) bilgilerini yansıtacak şekilde GPKX-Y olarak adlandırılmışlardır.

2. 4. Sanger yöntemi ile nükleotid dizileme

Bakterilerin 16S bölgeleri, evrensel olan 27F (TCCTACGGGAGGCAGCAGT) ve 519R (GACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT) primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılmış ve elde edilen PCR ürünleri dizilim için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (KSÜ) Sanayi Kamu İşbirliği Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (ÜSKİM) gönderilmiştir. Elde edilen diziler Blast programı kullanılarak Gen-Bank veri tabanındaki (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) diziler ile karşılaştırılarak türlerin tanımlaması gerçekleştirilmiştir.

2. 5. MALDI-TOF yöntemi ile tanımlama

Bakteri örneklerinden elde edilen taze koloniler, MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight) ile tanımlama yapılmak üzere Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne gönderilmiştir.

2. 6. Glifosatlı ortamda bakterilerin yetiştirilmesi ve büyüme miktarlarının spektrofotometre ile belirlenmesi

0.5 g glifosat tartılarak 10 mL saf su ile çözülmüş ve por çapı 0.22 µm olan steril filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir.

10 mL MSM besiyerine stoktan 100 µL (~3.8x10⁷tane) bakteri örneği ve glifosat kimyasalından 0.1 g/L, 0.5 g/L ve 1 g/L derişiminde olacak şekilde ilave edilerek kapaklar sıkıca kapatılmış ve vorteks ile karıştırılmıştır. 14 gün boyunca inkübasyona bırakılan bakterilerin süre sonundaki canlılıklarına LB besiyerine ekim yapılarak bakılmıştır. Bu işlemin uygulanmasında Zhao ve ark. (2015) yöntemi takip edilmiştir [23].

14 gün boyunca inkübe edilen örneklerden 1 mL alınarak spektrofotometre kuvetine koyulmuş ve 600 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Kör olarak MSM besiyeri kullanılmıştır.

2. 7. Spektrofotometre kullanılarak glifosatin miktar tayini yapılması

İnkübasyonu tamamlanan glifosatlı besin ortamından 1 mL alınarak 5000 rpm'de santrifüj edilmiş ve süpernatantın 100 µL'si 500 µL %96'lık etanol içerisinde hazırlanmış 5 g/100mL ninhidrin ve 500 µL saf su içerisinde hazırlanmış 5 g/100mL sodyum molibdat ile karıştırılmıştır. Karışım 75 °C'de 7 dakika bekletildikten sonra spektrofotometre kuvetlerine alınarak 570 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Bu ölçüm metodu Carneiro ve ark. (2015)'ten uyarlanmıştır [24].

2. 8. İstatistiksel analiz

Her bir grup için elde edilen tekrarlı değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığının bilinmesi için GraphPad Prism programı (CA, ABD) içerisinde yer alan "unpaired t testi" kullanılmıştır. Karşılaştırma yapılan gruplar için hesaplanan P değerinin 0.05'e eşit ya da ondan küçük olması durumunda, fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş ve "*" ile işaretlenmiştir. P değerinin sırasıyla 0.01, 0.001 ve 0.0001'den küçük olması durumunda "***, ***, ****" işaretlemeleri kullanılmıştır.

3. Bulgular

3. 1. Tanımlanan bakteriler

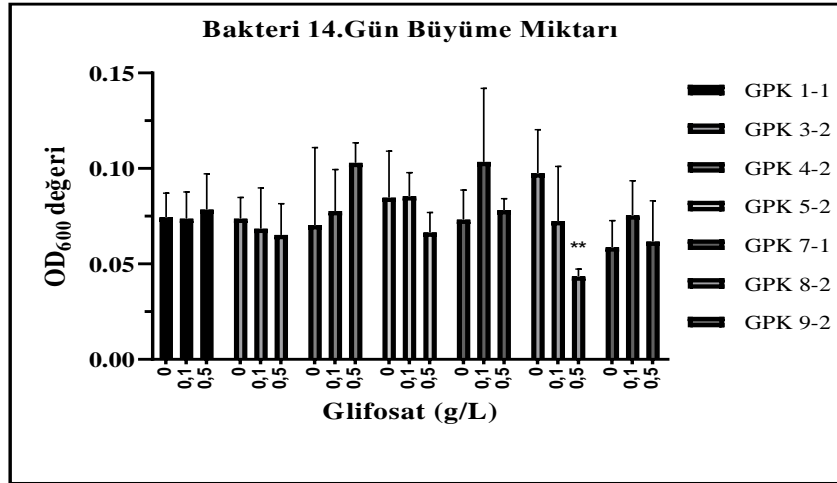
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi sınırları içindeki tarım arazilerinden glifosat kimyasalına maruz kalan topraklardan izole edilerek Sanger ve MALDI-TOF yöntemleri ile tanımlanan bakteriler Tablo 1'de verilmiştir. Hem Sanger dizileme yöntemi hem de MALDI-TOF yöntemi kullanılarak tüm izole edilen bakteri kolonilerinde *Klebsiella variicola* veya *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin varlığı tespit edilmiştir. 0.5 g/L derişiminde glifosat içeren besiyerlerinde tanımlanan bakterilerin, 0.1 g/L glifosat içeren besiyerinde de yetiştiği, 1 g/L derişimindeki besiyerinde ise hiç yetişme göstermediği gözlemlenmiştir.

Tablo 1. Sanger ve MALDI-TOF yöntemi ile tanımlanan bakteriler

Kullanılan yöntem	Bakterinin kodu	Bakterinin türü
Sanger yöntemi	GPK3-2	<i>Klebsiella variicola</i>
	GPK8-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MALDI-TOF	GPK1-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	GPK3-2	<i>Klebsiella variicola</i>
	GPK5-1	<i>Klebsiella variicola</i>
	GPK7-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	GPK8-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

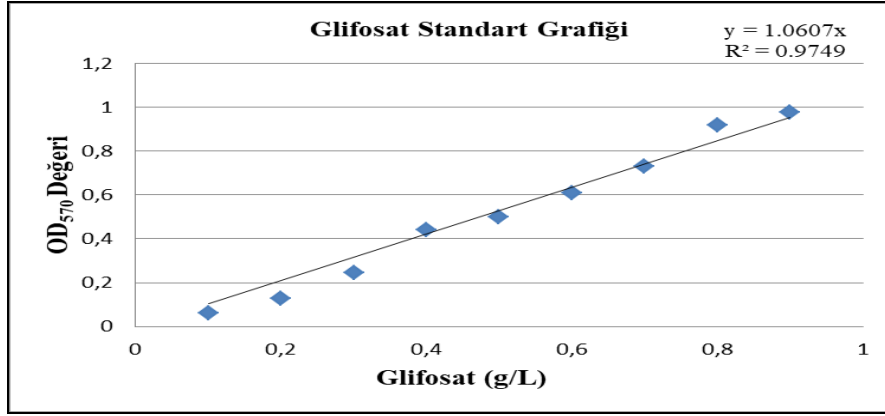
3. 2. Glifosatlı ortamda bakterilerin büyüme miktarlarının spektrofotometre kullanılarak belirlenmesi

MSM besi ortamında 0.1 ve 0.5 g/L glifosat içeren tüplere ekim yapılan bakterilerin 14. gün sonunda büyüme miktarları spektrofotometre cihazı ile 600 nm dalga boyundaki absorbansları aracılığıyla ölçülmüştür. GraphPad Prism programında “unpaired t test” analizi ile 0-0.1 g/L, 0-0.5 g/L ve 0.1-0.5 g/L 14. gün sonu büyüme kolonları kullanılarak istatistiksel karşılaştırmalar yapılmıştır (Şekil 1). GPK8-2 kolonisinde bulunan bakterilerden, 0.5 g/L glifosat içeren besiyerindeki bakteri büyüme miktarının hiç glifosat içermeyen (kontrol) besiyerindeki bakteri büyüme miktarına göre anlamlı bir azalma gösterdiği ($P < 0.01$), 0.1 g/L glifosat içeren besiyerindeki bakteri büyümesinin ise kontrole göre önemli bir değişim göstermediği görülmüştür. GPK8-2 kolonisi dışında bu çalışmada tespit edilen tüm diğer GPK serisi kolonilerin bakteri miktarlarında kontrole oranla 0.1 ve 0.5 g/L glifosat içeren besiyerlerinde önemli bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 1. Glifosat içeren MSM besi ortamdaki GPK serisi bakterilerin 14. gün büyüme miktarları. Her bir bakteri suşu için 0.1 ve 0.5 g/L için elde edilen değerler kendi kontrol grubu (0 g/L) ile karşılaştırılmıştır. **: $P < 0.01$

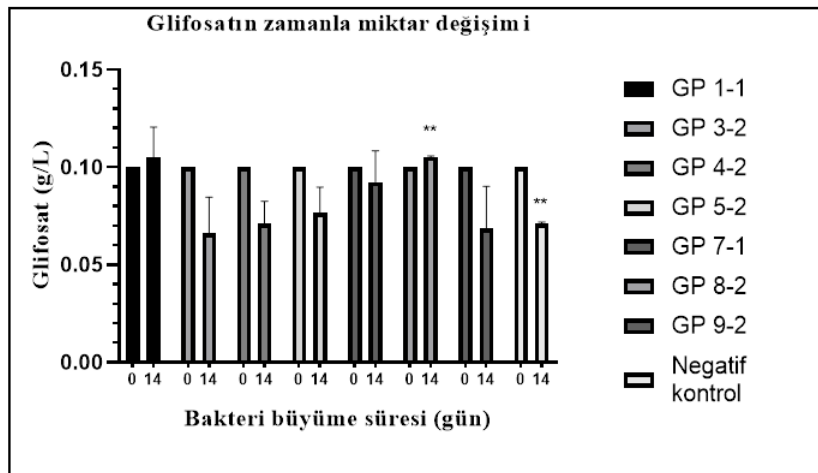
Glifosat standart grafiği çizmek için 0 ile 1 g/L arasında değişen miktarlarda glifosat içeren MSM besiyeri çözeltilerinin 570 nm’de yaptığı absorbans değerleri, sadece MSM içeren kör çözeltilisine karşı okunmuş ve elde edilen absorbans değerleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 2).

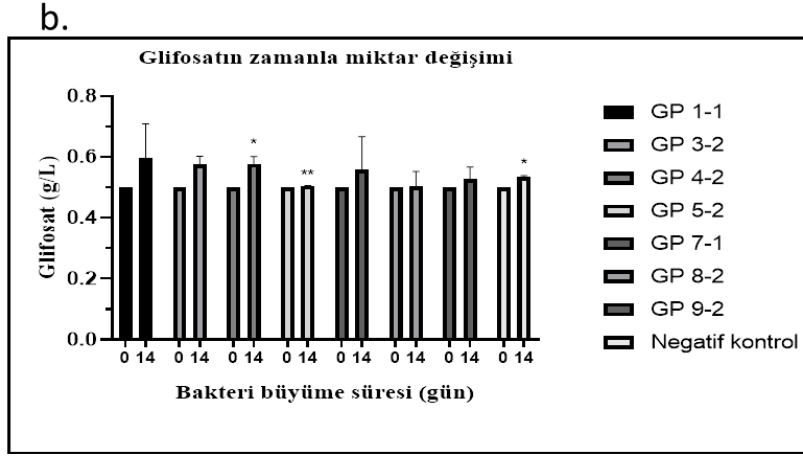


Şekil 2. Glifosat standart grafiği. X: glifosat derişimi (G/L), Y: absorbans değeri, R²: belirleme katsayısı

MSM besi ortamında 0.1 g/L ve 0.5 g/L glifosat içeren tüplere ekim yapılan bakteriler 14. gün sonunda uzaklaştırılarak, çözeltinin 570 nm dalga boyundaki absorbansı ölçülmüş ve standart grafik formülü ($y = 1.0607x$) aracılığıyla glifosat derişimi hesaplanmıştır. GraphPad Prism programı kullanılarak “unpaired t test” analizi ile 14. gün sonundaki besiyerlerindeki glifosat miktarının ilk ekim yapılan güne göre değışimleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Şekil 3.a ve 3.b). 0.1 g/L glifosat içeren besiyerinde büyütülen GPK8-2 kolonisinin besiyerinde 14. gün sonunda kontrole oranla glifosat miktarında anlamlı bir değışim belirlenirken ($P < 0.01$) GPK1-1 kolonisinin besiyerinde ise anlamlı olmayan bir artış görülmüştür ($P > 0.05$). Bu iki koloni dışındaki kolonilerin 0.1 g/L glifosat içeren besiyerlerinde yetiştirilen bakterilerin besiyerlerinde kontrole kıyasla 14. gün sonundaki glifosat miktarlarında azalmaların anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 3a). Aynı kolonilerin 0.5 g/L glifosat içeren besiyerlerinde yetiştirme sonucunda 0. güne göre 14. günde GPK4-2 kolonisinin besiyerinde istatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde anlamlı bir artış olduğu, GPK5-2 kolonisinin besiyerinde ise istatistiksel olarak $P < 0.01$ düzeyinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu iki koloni dışındaki tüm kolonilerde ise artışın anlamlı olmadığı görülmüştür (Şekil 3b).

a.





Şekil 3.a. 0.1 g/L glifosat içeren bakterilerin zamanla değişimi b. 0.5 g/L glifosat içeren bakterilerin zamanla değişimi. Negatif kontrol: bakteri içermeyen ortam. *: P<0.05, **: P<0.01

4. Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışmada Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Avşar Yerleşkesi içerisinde bulunan, glifosat uygulanmış tarım arazisinden alınan toprak örneklerindeki bakteriler tanımlanmış ve bu bakterilerin glifosatu degrade etme potansiyelleri değerlendirilmiştir.

Çalışmanın başında, izole edilen iki koloni, GPK3-2 ve GPK8-2, hem sanger metoduna dayalı sekanslama hem de protein analizine dayalı MALDI-TOF yöntemi ile tanımlanmış ve her iki analiz metodu da bu canlıları sırasıyla *Klebsiella variicola* ve *Klebsiella pneumoniae* olarak belirlemiştir. Bu veriye dayanarak; MALDI-TOF'un sekanslamadan daha hızlı ve daha ekonomik bir metod olması nedeniyle, sonraki tanımlamalarda yalnızca MALDI-TOF metodu kullanılmıştır.

Çalışmamız sonunda glifosatlı ortamda büyüeyebilen iki tür bakteri türü de (*Klebsiella variicola* ve *Klebsiella pneumoniae*) gram-negatif, basil şeklinde, ve hareketsizdir. Bu bakteriler üzerinde yapılan önceki çalışmalarda *K. pneumoniae* türüne ait PL1 suşunun palisiklik aromatik hidrokarbonlardan olan piren ve benzo [a] – piren kimyasallarını karbon ve enerji kaynağı olarak kullandığı [25], herbisit, insektisit ve boyama sanayisinde kullanılan, birçok organizma için toksik olduğu bilinen tiyosiyanat kimyasalını azot ve karbon kaynağı olarak kullanabildiği [26], metal ve elektro kaplama sanayisinde kullanılan siyanürün biyolojik olarak uzaklaştırılmasında kullanılabileceği [27] belirtilmiştir. Ayrıca, tarım arazilerinde bir insektisit olarak kullanılan endosülfan kimyasalının da bu bakteri tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullandığı bildirilmiştir [28]. Öte yandan, *K. variicola* FH-1 suşunun bir herbisit olan atrazin kimyasalını azot kaynağı olarak kullanabildiği bildirilmiştir [29]. Buna ilaveten *K. variicola* bakterisinin endüstriyel boya olarak kullanılan, reaktif kırmızı 198 boyasını bozma kabiliyeti olduğu da gösterilmiştir [30].

Her ne kadar çalışmamız, glifosatu degrade edebilen bir bakteri türünün tanımlanması ile sonuçlanmamışsa da, daha önceki çalışmalarda *Achromobacter* sp. MPK 7A, *Comamonas odontotermitis* P2, *Ochrobactrum intermedium* Sq20 ve *Pseudomonas* sp. 4ASW'nın listelendiği birçok bakteri suşunun glifosatu büyüme besini olarak kullandığı belirtilmiştir [31]. Diğer taraftan, bu çalışmadaki bakteri türleri ile aynı cinste olan *Klebsiella oxytoca* Saw-5 suşunun da molibden indirgemenin yanı sıra topraktaki glifosatu degrade edebilme kabiliyetinin olduğu gösterilmiştir [32]. Bu sebeple, yaygın karbon ve azot kaynağı dışında, yukarıda sayıldığı gibi toksik maddeleri kullanabildiği gösterilen *Klebsiella variicola* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin glifosatu da kullanabilecekleri varsayılmıştır. Ancak çalışmamızdaki sonuçları incelediğimizde; bu kimyasalın bakteriler tarafından kullanılmadığı görülmüştür. Bunun sebebi olarak; bakterilerin izole edildiği alanların önceki çalışmalardan farklı olması dolayısıyla farklı suşların izole edilmesi ihtimali olarak düşünülmektedir.

Ayrıca, bakterilerde glifosat degradasyon kabiliyetinin gözlenememesinin bir diğer nedeni; çalışılan glifosat dozlarının ilgili bakteriler için toksik olması olabilir. Nitekim önceki çalışmalarda, glifosat degrade edebilen mikroorganizmaların potansiyellerini belirlemek için inkübasyon zamanı, inkübasyon sıcaklığı ve başlangıç pH'sının yanı sıra glifosat konsantrasyonunun da önemli rol aldığı bildirilmiştir [31]. Bu düşünceyle çalışmamızdaki veriler incelendiğinde Şekil 1'deki GPK3-2, GPK5-2 ve GPK8-2 örneklerinde görülen büyüme miktarlarından 0.1 ve 0.5 g/L glifosat derişimi içeren besiyerlerindeki bakteri büyüme ortalama miktarlarının kontrol grubuna göre azalma gösterdiği görülmektedir. Büyüme miktarlarındaki bu azalma glifosatu 0.1 ve 0.5 g/L derişimlerde *Klebsiella variicola* ve *K. pneumoniae* bakterileri için toksik olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Öte yandan, GPK4-2, GPK7-1 ve GPK9-2 kolonilerinde 0.1 ve 0.5 g/L glifosat derişimlerde yetiştirilen bakterilerin ortalama büyüme miktarlarında artış gözlemlenmiştir. GPK3-2, GPK5-2 ve GPK8-2 kolonilerinde kıyasla bu kolonilerde görülen artış *Klebsiella*

variicola ve *K. pneumoniae* türlerinin olası farklı suşlarının glifosatu karbon kaynağı olarak kullanmada farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir.

Bakteri büyümesi sonrasında glifosat miktarının ölçümü için Carneiro ve ark (2015)'nin spektrofotometrik yöntemi en uygun yöntem olarak bulunmuştur. Bu yöntem ile Şekil 2'de görülen standart grafik oluşturulmasına rağmen, kimyasalın ölçümü sırasında, bakterilerin ürettiği ürünlerin ve/veya atıkların ölçümler üzerinde belirli bir miktar etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu düşüncenin nedeni; Şekil 3b'de görüldüğü gibi, 14. gün sonunda yapılan ölçümlerde, glifosat miktarının artıyor görünmesidir. Ancak, düşüncemizi test etmeye yönelik deneyler yapılmadığından yorumumuzun bir spekülasyondan öte anlam taşımadığının bilinmesi gerekir.

Sonuç olarak; glifosat uygulanmış Kahramanmaraş tarım arazisi toprağından izole edilen bakteriler *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella variicola* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan bakteriler tarafından, bu kimyasalın kullanılma yeteneğinin olmadığı düşünülmüştür. Aksine, bu kimyasalın bakterilere toksik etkisi olduğu gösterilmiştir. Toksik etkisine rağmen 0.1 g/L glifosat içeren ortamda en iyi büyüme gösteren bakterinin *Klebsiella pneumoniae* suşu olduğu belirlenmiştir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 2018/5-6 YLS Nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

- [1] Kitiş, Y. E., Yazır, B., Özgönen Özkaya, H. (2016). The effects of some soil herbicides on root colonization and spore number of mycorrhizal fungi *Glomus intraradices*. *Biological Diversity and Conservation*, 9(2), 1-7.
- [2] Demirkan, H. (2009). Herbisitlere dayanıklılık konusunda dünyada yapılmış bildirimlerin değerlendirilmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 46(1), 71-77.
- [3] Başaran, M. S., Serim, A. T. (2010). Herbisitlerin Toprakta Parçalanması. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(2), 54-61.
- [4] Kanissery, R. (2018). Herbicide - Nutrient Interactions in Soil: A Short Review. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 15(2). doi: 10.19080/artoaj.2018.15.555951
- [5] Li, H., Joshi, S. R., Jaisi, D. P. (2016). Degradation and isotope source tracking of glyphosate and aminomethylphosphonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 529-538. doi: 10.1021/acs.jafc.5b04838
- [6] Van Stempvoort, D. R., Roy, J. W., Brown, S. J., Bickerton, G. (2014) Residues of the herbicide glyphosate in riparian groundwater in urban catchments. *Chemosphere*, 95, 455-463.
- [7] Waiman, C. V., Avena, M. J., Garrido, M., Fernández Band, B., Zanini, G. P. (2012). A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media. *Geoderma*, 170, 154-158. doi: 10.1016/j.geoderma.2011.11.027
- [8] Zhang, C., Hu X., Luo, J., Wu, Z., Wang, L., Li, B., Wang, Y., Sun. G. (2015). Degradation dynamics of glyphosate in different types of citrus orchard soils in China. *Molecules*, 20(1), 1161-1175. doi: 10.3390/molecules20011161
- [9] Sihtmäe, M., Blinova, I., Künnis-Beres, K., Kanarbik, L., Heinlaan, M., Kahru, A. (2013) Ecotoxicological effects of different glyphosate formulations. *Applied Soil Ecology*, 72, 215-224. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.07.005
- [10] Wang, S., Seiwert, B., Kastner, M., Miltner, A., Schaffer, A., Reemtsma, T., Yang Q, Nowak K. M. (2016). Biodegradation of glyphosate in watersediment microcosms a stable isotope co-labeling approach. *Water Research*, 99, 91-100. doi: 10.1016/j.watres.2016.04.041
- [11] Niemann, L., Sieke, C., Pfeil, R., Solecki, R. (2015). A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 10, 3-12. doi: 10.1007/s00003-014-0927-3.
- [12] Campbell, A. W. (2014). Glyphosate: Its Effects on Humans. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 20(3), 9-11.
- [13] Pesticide Residue Monitoring Program Fiscal Year 2017 Pesticide Report. (2017). USA, U.S. Food and Drug Administration.
- [14] Richmond, M. E. (2018). Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species. *Journal of Environmental Studies and Sciences*, doi: 10.1007/s13412-018-0517-2.
- [15] Hanke, I., Wittmer, I., Bischofberger, S., Stamm, C., Singer, H. (2010). Relevance of urban glyphosate use for surface water quality. *Chemosphere*, 81(3),422-429. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.06.067
- [16] Shushkova, T., Ermakova, I., Leontievsky, A. (2010). Glyphosate bioavailability in soil. *Biodegradation*, 21(3), 403-410.
- [17] Grandcoin, A., Piel, S., Baures, E. (2017). Amino methyl phosphonic acid (AMPA) in natural waters: its sources, behavior and environmental fate. *Water Research*, 117, 187-197. doi: 10.1016/j.watres.2017.03.055.
- [18] Kwiatkowska, M., Huras, B., Bukowska, B. (2014). The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (in vitro). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 109, 34-43. doi: 10.1016/j.pestbp.2014.01.003.
- [19] Lupi, L., Miglioranza, K.S., Aparicio, V. C., Marino, D., Bedmar, F., Wunderlin, D. A. (2015). Occurrence of glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina. *Science of the Total Environment*, 536, 687-694. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.090
- [20] Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J. F., Carter, S., Negri, A. P. (2014). Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, 85(2), 385-390. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.021
- [21] Fan, J., Yang, G., Zhao, H., Shi, G., Geng, Y., Hou, T., Tao, K. (2012). Isolation, identification and characterization of a glyphosate-degrading bacterium, *Bacillus cereus* CB4, from soil. *Journal of General and Applied Microbiology*, 58(4), 263-271. doi: 10.2323/jgam.58.263

- [22] Firdous, S., Iqbal, S., Anwar, S. (2017). Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology, *Pedosphere*, doi:10.1016/S1002-0160(17)60381-3.
- [23] Zhao, H., Tao, K., Zhu, J., Liu, S., Gao, H., Zhou, X. (2015). Bioremediation potential of glyphosate-degrading *Pseudomonas* spp. Strains isolated from contaminated soil. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 61, 165-170. doi: 10.2323/jgam.61.165
- [24] Carneiro, R. T. A., Taketa, T. B., Gomes Neto R. J., Oliveira, J. L., Campos, E.V.R., Moraes, M. A., Silva, C. M. G., Beppu, M. M., Fraceto, L. F. (2015). Removal of glyphosate herbicide from water using biopolymer membranes. *Journal of Environmental Management*, 151, 353-360. doi: 10.1016/j.jenvman.2015.01.005
- [25] Pipke Ping, L., Zhang, C., Zhang, C., Zhu, Y., He, H., Wu M., Tang, T., Li, Z., Zhao, H. (2014). Isolation and characterization of pyrene and benzo[a]pyrene-degrading *Klebsiella pneumoniae* PL1 and its potential use in bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 3819. doi: 10.1007/s00253-013-5469-6
- [26] Chaudhari, A. U., Kodam, K. M. (2010). Biodegradation of thiocyanate using co-culture of *Klebsiella pneumoniae* and *Ralstonia* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1167-1174. doi: 10.1007/s00253-009-2299-7
- [27] Avcioglu, N. H., Bilkay I. S. (2019). Cyanide Removal in Electroplating, Metal Plating and Gold Mining Industries Wastewaters by Using *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* Species. *European Journal of Biological Research*, 78(1), 5-10.
- [28] Kwon, G. S., Kim, J. E., Kim, T. K., Sohn, H. Y., Koh, S. C., Shin K. S., Kim, D. G. (2002). *Klebsiella pneumoniae* KE-1 degrades endosulfan without formation of the toxic metabolite, endosulfan sulfate. *FEMS Microbiology Letters*, 215, 255-259. doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11399.x
- [29] Zhang, J., Liang, S., Wang, X., Lu, Z., Sun, P., Zhang H., Sun, F. (2019). Biodegradation of Atrazine by the Novel *Klebsiella variicola* Strain FH-1. *Hindawi BioMed Research International*, 4, 1-12. doi: 10.1155/2019/4756579
- [30] Eslami, H., Shariatifar. A., Rafiee, E., Shiranian, M., Salehi, F., Hosseini S. S., Eslami. G., Ghanbari. R., Ebrahimi, A. A. (2019). Decolorization and biodegradation of reactive Red 198 Azo dye by a new *Enterococcus faecalis*-*Klebsiella variicola* bacterial consortium isolated from textile wastewater sludge. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(3), 38. doi: 10.1007/s11274-019-2608-y.
- [31] Zhan, H., Feng, Y., Fan, X., Chen, S. (2018). Recent advances in glyphosate biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 5033-5043. doi: 10.1007/s00253-018-9035-0.
- [32] Sabullah, M.K., Rahman, M.F., Ahmad, S.A., Sulaiman, M.R., Shukor, M.S., Shamaan, N.A., Shukor, M.Y. (2016). Isolation and Characterization of A Molybdenum-Reducing and Glyphosate-Degrading *Klebsiella oxytoca* Strain Saw-5 in Soils from Sarawak. *AGRIVITA*. 38(1), 1-13. doi: 10.17503/agrivita.v38i1.654.



Seed morphological properties of the genus *Lavatera* L. (Malvaceae) in Turkey

Funda ÖZBEK ^{*1}, Mehmet Erkan UZUNHİSARCIKLI ¹
ORCID: 0000-0002-0135-0155; 0000-0001-8476-3205

¹ University of Gazi, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

Abstract

Seed morphology of four *Lavatera* species distributed in Turkey were investigated via light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM) to determine their seed macro- and micromorphological characters and to assess the diagnostic value of these features. The seeds are dark brown in color and reniform with rounded apex and base reniform in shape. The dimension of seeds ranges between 1.68–2.89 mm in length and 1.51–2.4 mm in width. Also seeds are glabrous, strophiolate and hilum at basal. Two types of seed surface pattern have been observed: scalariform-ruminate and reticulate-ruminate. The seed size and seed coat ornamentation have been determined as important morphological properties for distinguishing the *Lavatera* species.

Key words: *Lavatera*, macro-micromorphology, Malvaceae, seed, Turkey

----- * -----

Türkiye’deki *Lavatera* L. (Malvaceae) cinsinin tohum morfolojisi özellikleri

Özet

Türkiye’de yayılış gösteren dört *Lavatera* türünün tohum morfolojisi, bu türlerin tohumlarının makro- ve mikromorfolojik karakterlerini belirlemek ve bu özelliklerin diyagnostik değerini değerlendirmek için ışık mikroskobu (IM) ve taramalı elektron mikroskobuyla (SEM) incelenmiştir. Tohumlar koyu kahverengi renkte ve yuvarlak uç ve reniform taban ile reniform şekillidir. Tohumların boyutu, uzunlukta 1.68–2.89 mm ve genişlikte 1.51–2.4 mm arasında değişmektedir. Ayrıca tohumlar tüsüz, strofiyolat ve hilum bazaldadır. Skalariform-ruminat ve retikülat-ruminat olmak üzere iki tohum yüzey tipi gözlenmiştir. Tohum büyüklüğü ve tohum kabuğu ornamentasyonu *Lavatera* türlerinin ayrımında önemli morfolojik özellikler olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Lavatera*, makro-mikromorfoloji, Malvaceae, tohum, Türkiye

1. Introduction

The genus *Lavatera* L. belonging to the family Malvaceae comprises about 20 species especially herbs and shrubs in the world. Its main center of diversity is in the Western Mediterranean Basin and also *Lavatera* species are distributed in California, Ethiopia, Mexico and western Australia [1-4]. However, this genus is represented by four species, namely *L. bryoniifolia* Mill., *L. punctata* All., *L. thuringiaca* L. and also *L. trimestris* L. in Turkey [5, 6].

Bates [7] have grouped the genera *Lavatera*, *Malva* L., *Althaea* L. and *Alcea* L. named as *Malva* alliance based on their morphology. In this group, *Lavatera* is more closely related to *Malva* than the other genera. At first, Linnaeus [8] separated the two genera based on the conformation of epicalyx characters (three fused epicalyx bracts in *Lavatera* and free of two or three epicalyx bracts in *Malva*). This classification was followed by some researchers [3, 4, 9, 10]. But the molecular studies [11-13] have been recently carried out indicated that this classification is not reliable for discriminating these genera. Ray [11] studied the systematics of *Lavatera* and *Malva* and the researcher reported two

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903122021514; Fax.: +903122122279; E-mail: fundaozbek@gazi.edu.tr

groups named as “malvoid” and “lavateroid” for their species based on molecular analysis and fruit morphology. The species belonging to two genera were in the malvoid group. The malvoid *Lavatera* species were transferred to the genus *Malva* [14-18]. Escobar Garcia et al. [13] studied the genera *Lavatera* and *Malva* and their closely related genera *Alcea*, *Althaea*, *Kitaibelia* Willd. and also *Malope* L. and they proposed two alternative approaches for their classification: to split the *Malva* alliance into a number of small and clearly monophyletic groups or to combine both lavateroids and malvoids into a single genus.

The morphology of seed has been carried out in some species of Malvaceae. El Naggat [19] studied the properties of seed morphology of 14 species from Egypt in order to evaluate the importance of these features as taxonomic evidence. Esteves [20] investigated the fruits and seeds of *Pavonia* Cav. species from Brazil and detected that the variability in fruit and seed characters were useful for distinguishing the closely related species of the studied subgenera. The seed morphological characteristics of 14 species in Egypt were studied with light microscopy and scanning electron microscopy by Ather et al. [21]. These researchers stated that these features could be used to delimit the taxa generic and specific ranks. El Kholy et al. [22] examined the seed surface patterns of 11 cultivars belonging to two *Hibiscus* L. species and they said that these characters provided important data to be used in infra-generic classification. Abid et al. [23] reported that the seed micromorphology was very helpful for discrimination of taxa in their examined 75 taxa of Malvaceae distributed in Pakistan. Fawzi [24] studied the macro and micromorphological characters of seeds of five *Corchorus* L. species to define systematic significance of these properties and the researcher detected that seed morphological characters were quite diverse and stable and so they could be easily used to delimit the taxa at specific levels in studied species.

The aims of the current work are to reveal the seed morphological characteristics of the genus *Lavatera* distributed in Turkey using stereomicroscope (LM) and scanning electron microscope (SEM), to evaluate the systematic importance of examined features in terms of macro-micromorphological variations and also to contribute the taxonomy of the genus.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

Research materials were collected from different localities in Turkey at the flowering and fruiting periods. Collectors and localities are given in Table 1. These specimens are deposited at University of Gazi, Faculty of Science Herbarium (GAZI). The order of the species was adopted from Uzunhisarcıklı [6].

Table 1. Localities of *Lavatera* species investigated

Species	Locality	Voucher Number
<i>Lavatera bryoniifolia</i>	C1 Aydın: Dilek Peninsula-Büyük Menderes Delta National Park, Aydınlık cove road, 70 m, 26.5.2002, macchie	M. Ekici 2838
<i>Lavatera punctata</i>	C5 Mersin: Mezitli-Fındıkpinarı, 6. km, 350 m, 14.6.2004, macchie	M.E. Uzunhisarcıklı 1962
<i>Lavatera thuringiaca</i>	A9 Kars: Akçay-Cumaçay, 11. km, 1759 m, 16.08.2004, roadsides	M.E. Uzunhisarcıklı 2004
<i>Lavatera trimestris</i>	C5 Mersin: Heleke-Tarsus, west of Heleke district, water canal around, 48 m, 01.05.2019, edge of field	F. Özbek 1044

2.2. Seed morphological analyses

Seed morphology of the *Lavatera* species was investigated using light microscopy and scanning electron microscopy. At least 30 mature seeds of each species were first examined and measured for their length and width under the Leica EZ4D stereoscopic microscope. The Simpson and Roe graphical test [25] was used in statistical calculations. For SEM analyses, the seeds were mounted on stubs using double-sided adhesive tape, and then covered with gold. They were investigated and photographed with a JEOL JSM 6060 Scanning Electron Microscope at Gazi University, Ankara. The terminology used for seed morphology followed Barthlott [26] and Abid et al. [23].

3. Results

The seeds of the studied species from the genus *Lavatera* are dark brown, reniform, apex rounded and base reniform. Seed length ranges from 1.68 to 2.89 mm and seed width from 1.51 to 2.4 mm. They are glabrous, strophiolate with hilum basal in position. The seed surface is formed by rectangular or polygonal shaped of regularly or irregularly arranged epidermal cells conspicuous, straight or undulate, raised, striped anticlinal walls and conspicuous, concave, ruminant periclinal walls. The seed coats exhibit scalariform-ruminant and reticulate-ruminant ornamentation.

The main seed morphological characters of four *Lavatera* species investigated are summarized in Table 2 and also shown in Figures 1, 2.

***Lavatera bryoniifolia* Mill.**

The seeds are dark brown, reniform, $1.68\text{--}2.38 \times 1.51\text{--}1.99$ mm with rounded apex, reniform base, glabrous, strophiolate with hilum basal in position. The ratio of length/width is 1.16 ± 0.09 . It has scalariform-ruminate ornamentation. The seed coat is formed by rectangular or polygonal shaped of irregularly arranged epidermal cells with straight or undulate, raised and striped anticlinal walls and also concave, ruminate periclinal walls.

***Lavatera punctata* All.**

The seeds are dark brown, reniform, $1.83\text{--}2.1 \times 1.73\text{--}2.01$ mm with rounded apex, reniform base, glabrous, strophiolate with hilum basal in position. The ratio of length/width is 1.08 ± 0.07 . It has scalariform-ruminate ornamentation. The seed coat is formed by rectangular or polygonal shaped of irregularly arranged epidermal cells with straight or undulate, raised and striped anticlinal walls and also concave, ruminate periclinal walls.

***Lavatera thuringiaca* L.**

The seeds are dark brown, reniform, $1.98\text{--}2.69 \times 1.59\text{--}2.24$ mm with rounded apex, reniform base, glabrous, strophiolate with hilum basal in position. The ratio of length/width is 1.23 ± 0.06 . It has reticulate-ruminate ornamentation. The seed coat is formed by polygonal shaped of regularly or irregularly arranged epidermal cells with straight or undulate, raised and striped anticlinal walls showing a reticulate appearance and also concave, ruminate periclinal walls.

***Lavatera trimestris* L.**

The seeds are dark brown, reniform, $2.45\text{--}2.89 \times 2\text{--}2.4$ mm with rounded apex, reniform base, glabrous, strophiolate with hilum basal in position. The ratio of length/width is 1.18 ± 0.06 . It has reticulate-ruminate ornamentation. The seed coat is formed by polygonal shaped of regularly arranged epidermal cells with straight or undulate, raised and striped anticlinal walls showing a reticulate appearance and also concave, ruminate periclinal walls.

Table 3. Seed morphological data of *Lavatera* (values in mm)

Species / Characters		<i>L. bryoniifolia</i>	<i>L. punctata</i>	<i>L. thuringiaca</i>	<i>L. trimestris</i>
Color		Dark brown	Dark brown	Dark brown	Dark brown
Length (L)	Min.	1.68	1.83	1.98	2.45
	Max.	2.38	2.1	2.69	2.89
	Mean	2.07	1.99	2.35	2.65
Width (W)	Min.	1.51	1.73	1.59	2
	Max.	1.91	2.01	2.24	2.4
	Mean	1.83	1.8	1.9	2.23
L / W		1.16 ± 0.09	1.08 ± 0.07	1.23 ± 0.06	1.18 ± 0.06
Indumentum		Glabrous	Glabrous	Glabrous	Glabrous
Surface pattern		Scalariform-ruminate	Scalariform-ruminate	Reticulate-ruminate	Reticulate-ruminate
Epidermal cells shape		Rectangular or polygonal	Rectangular or polygonal	Polygonal	Polygonal
Anticlinal walls	Level	Raised	Raised	Raised	Raised
	Shape	Straight or undulate	Straight or undulate	Straight or undulate	Straight or undulate
Periclinal walls	Level	Concave	Concave	Concave	Concave
	Surface	Ruminate	Ruminate	Ruminate	Ruminate

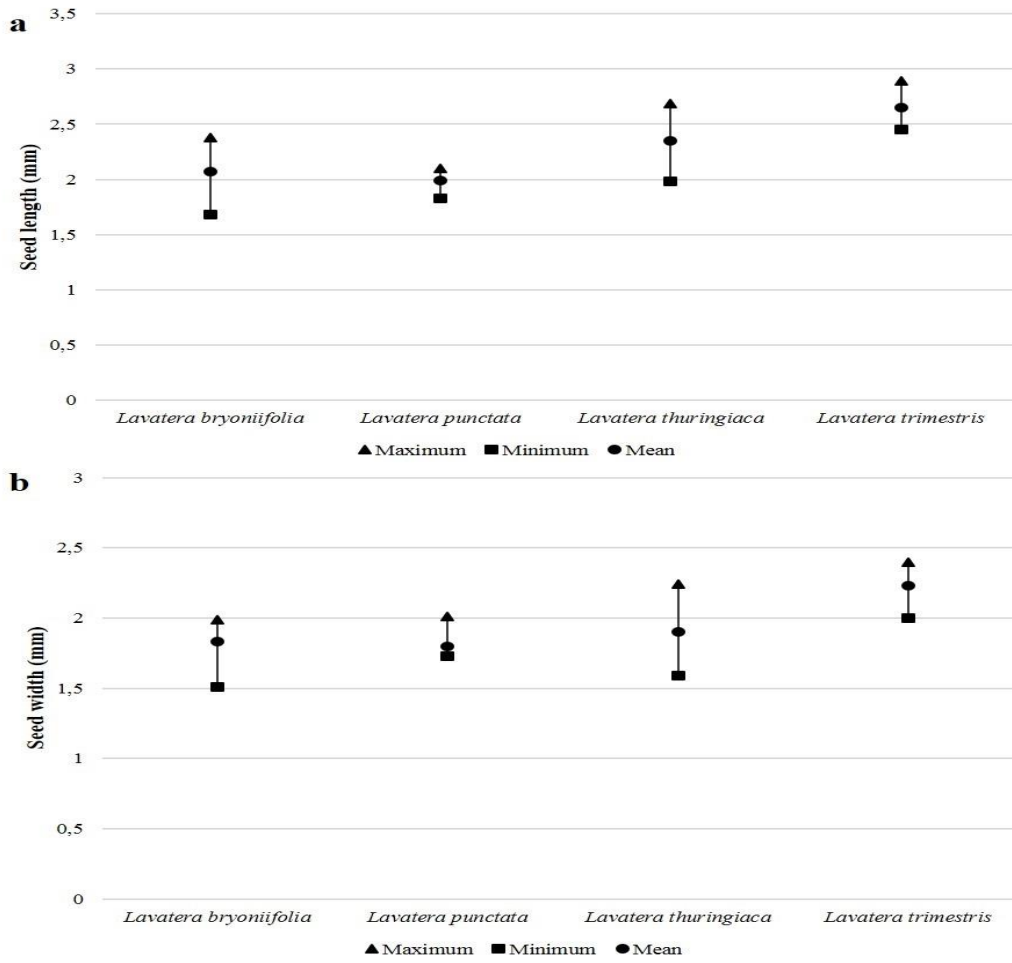


Figure 1. Simpson and Roe test for the studied *Lavatera* species; a) Seed length, b) Seed width

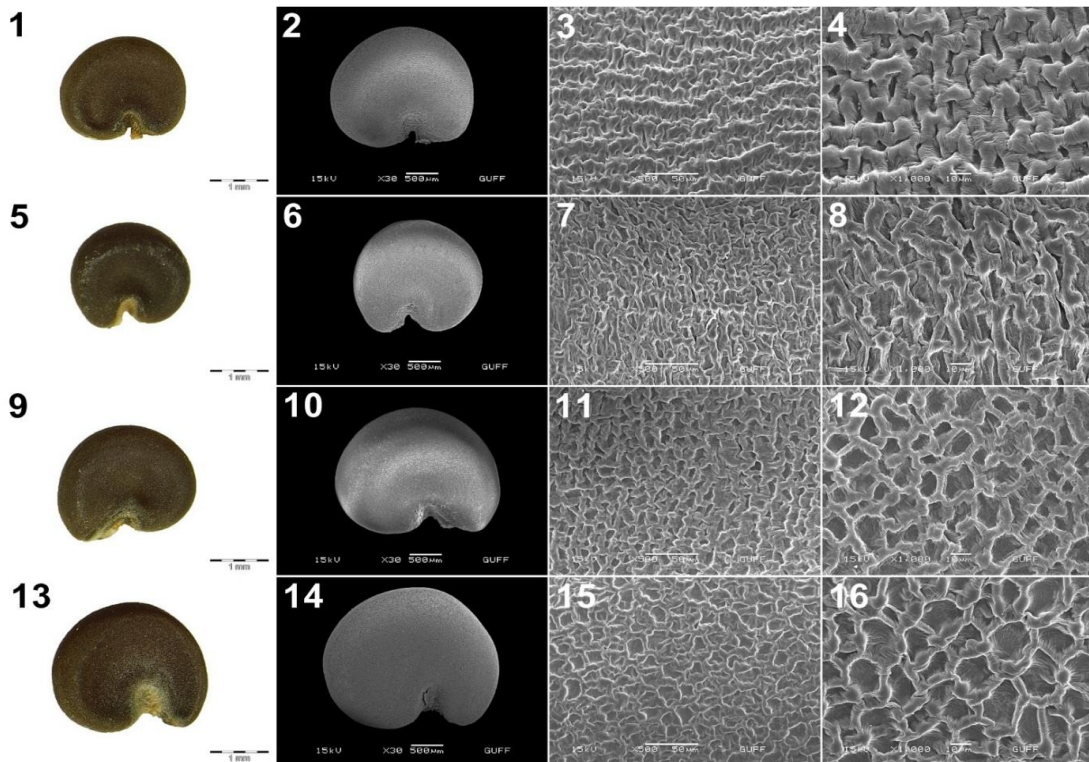


Figure 2. SEM micrographs of seeds of *Lavatera*. 1–4. *L. bryoniifolia*, 5–8. *L. punctata*, 9–12. *L. thuringiaca*, 13–16. *L. trimestris*.

4. Conclusions and discussion

The seed morphological properties of the family Malvaceae are consistent and very useful for delimitation the taxa in this family [21, 23, 27, 28]. The macro- and micromorphology of the seeds show taxonomically important characteristics in Turkish *Lavatera* species.

The dimensions of seeds are variable among the examined species. Seed size ranges from 1.68 to 2.89 mm in length and from 1.51 to 2.4 mm in width. The largest seeds have been observed in *L. trimestris* (2.65 × 2.23 mm) and the smallest ones in *L. punctata* (1.99 × 1.8 mm). Esteves [20] found no significant differences in the studied *Pavonia* species in terms of the seed shape and color. The researcher observed the reniform seeds in the majority of studied species except of sect. *Asterochlaena* (Garcke) Ulbr. and sometimes in sect. *Lopimia* (Mart.) Endl. (obovoid shape) and also usually chestnut-coloured in the species of subgenera *Typhalea* and *Goetheoides* and vinaceous to blackish in subgenera *Pavonia*. Our findings are partly congruent with his results and also similarly, the shape and color of seeds are rather uniform among the investigated *Lavatera* species. The seeds are reniform with rounded apex and reniform base and also dark brown in all investigated species.

El Naggar [19] detected that the seed coat features showed relationships between intra- and inter-groups of his studied species belonging to the family Malvaceae. Esteves [20] reported that the seed surface pattern was important for the separation of the sections of subgenera *Pavonia*. El Kholy et al. [22] recognized four types of seed coat ornamentation as reticulate, ocellate, foveolate and ruminant in their investigated *Hibiscus* species and they detected that this significant character could be used infra-generic classification. Abid et al. [23] observed considerable variation on seed coat pattern in their investigated 6 subfamilies belonging to the family Malvaceae. The researchers defined reticulate, reticulate-foveate, foveate, falsifoveate, rugose, rugosely foveate, rugosely falsifoveate, favulariate, verrucate, rugosely striate or scalariform and also transversely striate ornamentation on seed surface in the tribe Malveae which also includes the genus *Lavatera*. Moreover, Fawzi [24] stated that the seed surface features had a diagnostic value and observed rugosely-striate, ruminant, reticulate, and ruminant-reticulate ornamentation in studied *Corchorus* species. The seed ornamentation shows differences among the studied species in our study. Two types of seed surface have been revealed from the SEM: scalariform-ruminant and reticulate-ruminant. Scalariform-ruminant ornamentation has been observed in *L. bryoniifolia* and *L. punctata* and reticulate-ruminant sculpturing in *L. thuringiaca* and *L. trimestris*.

The shape and arrangement of epidermal cells are different between these four *Lavatera* species. Rectangular or polygonal shaped of epidermal cells have been found in *L. bryoniifolia* and *L. punctata*, whereas in *L. thuringiaca* and *L. trimestris* these cells are only polygonal in shape. Moreover, these cells generally show irregular or rarely regular arrangement except of *L. trimestris*. The epidermal cells of *L. trimestris* are arranged in regular. Barthlott [26] detected that the anticlinal and periclinal walls of the epidermis cell had high taxonomic value at interspecific levels in different families. However, no variation has been observed in these walls of epidermal cells in our study. The anticlinal walls are conspicuous, straight or undulate, raised and striped anticlinal walls and conspicuous, concave, ruminant periclinal walls in all the examined species.

As a conclusion, the present study provides the detailed reports on seed morphological traits of Turkish *Lavatera* species. Our results based on LM and SEM analyses has pointed out that the dimensions and surface patterns of seeds are of important morphological characteristics for the separation of the studied species.

Acknowledgements

The authors would like to thank to Gazi University Research Fund (05/2019-08) for financial support.

References

- [1] Hutchinson, J. (1964). The genera of flowering plants (angiospermae) dicotyledones. Oxford: Oxford University Press.
- [2] Heywood, V. H. (1978). Flowering plants of the World. London: Oxford University Press.
- [3] Fernandes, R. (1968a). Contribuicoes para o conhecimento do genero *Lavatera* L. I. Notas sobre algu mas especies. Collectanea Botanica, 7, 393-448.
- [4] Fernandes, R. (1968b). Contribuicoes para o conhecimento do genero *Lavatera* II: Taxonomia. Boletim da Sociedade Portuguesa de Ciências Naturais (ser. 2 a), 12, 67-103.
- [5] Cullen, J. (1967). *Lavatera* L. In P. H. Davis (Ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 2. (pp. 408-410). Edinburgh: Edinburgh University Press.
- [6] Uzunhisarcıklı, M. E. (2012). *Lavatera* L. In A., Güner, S., Aslan, T., Ekim, M., Vural, & M. T., Babaç (Eds.), Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) (pp. 620). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.

- [7] Bates, D. M. (1968). Generic relationships in the *Malvaceae*, tribe *Malveae*. *Gentes Herbarum*, 10, 117-135.
- [8] Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum*. Holmiae [Stockholm]: Impensis Laurentii Salvii.
- [9] De Candolle, A. P. (1824). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Paris: Treuttel & Wurtz.
- [10] Baker, W. R. (1890). Synopsis of genera and species of Malveae. *Journal of Botany*, 28, 140-145, 207-213, 239-243, 339-343, 367-371.
- [11] Ray, M. F. (1995). Systematics of *Lavatera* and *Malva* (Malvaceae: Malveae)-a new perspective. *Plant Systematics and Evolution*, 198, 29-53.
- [12] Tate, J. A., Fuertes Aguilar, J., Wagstaff, S. J., La Duke, J. C., Bodo Slotta, T. A., & Simpson, B. B. (2005). Phylogenetic relationships within the tribe *Malveae* (Malvaceae, subfamily Malvoideae) as inferred from ITS sequence data. *American Journal of Botany*, 92, 584-602. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.4.584>
- [13] Escobar García, P., Schönswetter, P., Fuertes Aguilar, J., Nieto Feliner, G., & Schneeweiss, G. M. (2009). Five molecular markers reveal extensive morphological homoplasy and reticulate evolution in the *Malva* alliance (Malvaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50, 226-239. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.10.015>
- [14] Ray, M. F. (1998). New combination in *Malva* (Malvaceae: Malveae). *Novon*, 8, 288-295. <https://doi.org/10.2307/3392022>
- [15] Banfi, E., Galasso, G., & Soldano, A. (2005). Notes on systematics and taxonomy for the Italian vascular flora, I. *Atti della Società italiana di Scienze naturali e del Museo civico di Storia naturale di Milano*, 146, 219-236.
- [16] Molero, J., & Montserrat, J. M. (2005). Nomenclatura de algunas especies del género *Malva* Linnaeus (Malvaceae). *Fontqueria*, 55(38), 285-292.
- [17] Molero, J., & Montserrat, J. M. (2006). Adiciones y enmiendas nomenclaturales en el género *Malva* L. (Malvaceae). *Lagascalia*, 26, 153-155.
- [18] Iamonico, D. (2010). *Malva subovata* subsp. *bicolor*, comb. & stat. nov. (Malvaceae). *Annales Botanici Fennici*, 47, 312-314. <https://doi.org/10.5735/085.047.0409>
- [19] El Naggar, S. M. I. (2001). Systematic implication of seed coat morphology in Malvaceae. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(1), 822-828. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2001.822.828>
- [20] Esteves, G. L. (2004). Taxonomic characters of fruit and seed in brazilian species of *Pavonia* Cav. (Malvaceae). *Hoehnea*, 31(1), 87-92.
- [21] Ather, A., Abid, R., & Qasier, M. (2009). The seed atlas of Pakistan-II Grewioideae. *Pakistan Journal of Botany*, 41(6), 2647-2656.
- [22] El-Kholy, M. A., Kasem, W. T., & Mabrouk, A. S. (2011). Taxonomic evaluation using pollen grain sculpture and seed coat characters of 11 taxa of genus *Hibiscus* (Malvaceae) in Egypt. *Annals of Agriculture Science*, 56, 9-15.
- [23] Abid, R., Ather, A., & Qaiser, M. (2016). Seed morphology and its taxonomic significance in the family Malvaceae. *Pakistan Journal of Botany*, 48(6), 2307-2341.
- [24] Fawzi, N. M. (2018). Seed morphology and its implication in classification of some selected species of genus *Corchorus* L. (Malvaceae). *Middle East Journal of Agriculture Research*, 7(1), 1-11.
- [25] Van der Pluym, A., & Hideux, M. (1997). Applications d'une methodologie quantitative a la palynologie d'*Eryngium maritimum* (Umbelliferae). *Plant Systematics and Evolution*, 127, 55-85. <https://doi.org/10.1007/BF00984142>
- [26] Barthlott, W. (1981). Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany*, 1(3), 345-355. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1981.tb00704.x>
- [27] Ahmed, R. & Qaiser, M. (1989). Seed morphological studies of some common plants of Karachi. *Pakistan Journal of Botany*, 21(2), 218-246.
- [28] Kirkbride, J. H., Gunn, C. R., & Dawllwitz, M. J. (2006). Family guide for fruit & seeds, vers. 1.0. Retrieved from <http://nt.ars-grin.gov/SeedsFruits/keys/frsdfam/Index.cfm>



Invasive fish threat in Manyas Lake (Turkey)

Gülşah SAÇ^{*1}, Özcan GAYGUSUZ¹, Ali ERTÜRK¹
ORCID: 0000-0001-9988-1116; 0000-0001-6861-6221; 0000-0002-3532-2961

¹ Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Marine and Freshwater Resources Management, 34134, Laleli, İstanbul, Turkey

Abstract

Two non-native freshwater fish species, *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 and *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846) were recorded for the first time for the Manyas Lake, and the number of the non-native fish species living in the lake has increased to three. These non-native fish species described as invasive were considered as new threats to the lake, which is already threatened by eutrophication and habitat degradation.

Key words: non-native species, shallow lake, biodiversity, *Pseudorasbora parva*, *Gambusia holbrooki*

----- * -----

Manyas Gölü (Türkiye)'nde istilacı balık tehdidi

Özet

Yerli olmayan iki tatlısu balığı türü, *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 ve *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846) Manyas Gölü için ilk kez kaydedilmiştir ve gölde yaşayan egzotik balıkların sayısı üçe yükselmiştir. İstilacı olarak tanımlanan bu egzotik balıklar, ötrofikasyon ve habitat tahribatı tehdidi de olan göl için yeni tehditler olarak tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: yabancı tür, sığ göl, biyoçeşitlilik, *Pseudorasbora parva*, *Gambusia holbrooki*

1. Introduction

The intentional introduction of fish around the world is mostly the consequence of the globalization of the aquaculture trade and the increase of the societal demands such as angling or sport fishing, filling an ecological niche as food, foraging for fisheries, biological control, and ornamental fish [1, 2]. After a non-native species is introduced to a new ecosystem, if it adapts well in the environment, and reproduces and spreads rapidly, it may become an invasive that will damage the ecosystem processes [3]. Introduction and spreading of invasive fish have been evaluated as a global problem due to their both ecological and economical risks and the investigation of the effects of these fishes has constituted an exponentially growing attention among the scientific literature since the 1970s [2, 4]. With a general view that non-native fish introduction is considered as a major threat to local fish populations and biodiversity in aquatic ecosystems in general via mechanisms such as out-competition (food or habitat), hybridization, the transmission of a novel disease and predation when they became highly abundant [4, 5, 6]. One of the most striking examples of the impacts of an introduced fish is Nile perch *Lates niloticus* (Linnaeus, 1758), a large piscivorous, which caused destruction in Lake Victoria and its surroundings. The fish was introduced with the aim of recreational fishing to the lake, where is considered to have the richest fish fauna in the world, and it has become the dominant species over time and then has caused the extinction of the many herbivores endemic and native Cichlid species. As the herbivore fish disappeared, the food web in the lake has severely altered and the excessive algae increase has caused oxygen depletion in the bottom. The impact of the fish was not limited to the lake, it has led to socioeconomic changes and environmental damage as well. The increase in the population density of the fish has directed many families to the fisheries and as a result of the excessive human migration to the surrounding of the lake, fishery-related employment has approximately doubled. The fish, which were harvested in large quantities, have started to be released to the

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905553512569; Fax.: +905553512569; E-mail: gulsahsac@gmail.com

market with the smoking process. Trees cut for these purposes caused landslides on the hills around Lake Victoria, and therefore, large amounts of silt have entered into the lake [3, 7, 8].

The Manyas Lake located at the Susurluk river basin in northwest Anatolia is one of the most important shallow lakes in Turkey. Susurluk river basin is one of Turkey's 25 main watersheds by the hydrological properties [9]. While the lake gets most of its water from Kocaçay, Sığırcı and Mürvetler streams and groundwater, the outlet water of the lake is Karadere connected to the Susurluk River. This special lake, which has the status of wetland, was designated as Ramsar Site in 1994 in terms of being a migration routes of some bird species and used by these birds as a nesting and shelter area [10]. The lake, from the past to the present, has been also a valuable fish production area that has favourable ecological conditions for fish to survive, and fishing activities are evaluated as an important income for the local people [11]. Previous studies reported 23 fish species living in the Manyas lake basin as follows; *Alburnus carinatus* Battalgiç, 1941, *Alburnoides manyasensis* Turan, Ekmekçi, Kaya & Güçlü, 2013, *Alosa maeotica* (Grimm, 1901), *Barbus niluferensis* Turan, Kottelat & Ekmekçi, 2009, *Blicca bjoerkna* (Linnaeus, 1758), *Capoeta tinca* (Heckel, 1843), *Cobitis puncticulata* Erk'akan, Atalay-Ekmekçi & Nalbant, 1998, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758), *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), *Esox lucius* (Linnaeus, 1758), *Knipowitschia longicaudata* (Kessler, 1877), *Leuciscus aspius* (Linnaeus, 1758), *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814), *Oxyneomacheilus simavicus* (Balık & Bănărescu, 1978), *Petroleuciscus borysthenticus* (Kessler, 1859), *Proterorhinus semilunaris* (Heckel, 1839), *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782), *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758) *Squalius cii* (Richardson, 1857) and *Vimba vimba* (Linnaeus, 1758) [12, 13, 14, 15]. Five of them (*A. carinatus*, *A. manyasensis*, *B. niluferensis*, *O. simavicus*, and *S. cii*) are cited as endemic fish species for western Anatolia and this biological richness further increases the importance of the lake basin.

Over the last years, the Manyas Lake has become more and more polluted due to eutrophication, habitat degradation, and environmental pressures such as agriculture, poultry husbandry, and industrial facilities, and its ecological function was threatened by these negative effects [16, 17]. Besides the decrease in the lake's ecosystem services and processing, non-native and/or invasive fish species may become direct threats. They may have a detrimental impact on the sustainability of fish diversity and their biomass as well as local fisheries and may cause irreversible damages especially for the future of endemic fishes. The first non-native fish species reported for the lake is *C. gibelio* but as an invasive species, there have been no studies on its possible impacts on the fish fauna since the 2000s when it was reported [18]. This study aims to report the presence of the other non-native fish species that may pose a threat to the biodiversity in the Manyas Lake and to list possible invasion threats to the future of the native and endemic fishes in the lake.

2. Materials and methods

Fish samples were collected using a portable electro-shocker (SAMUS 725G), cast-nets (10 mm mesh-sized) and a scoop-net (2 mm mesh-sized) from the shorelines of the Manyas Lake (Figure 1) between April and August 2019. The fish samplings were conducted near Bird Paradise National Park with a coordinate 40.225561°N, 28.049675°E.

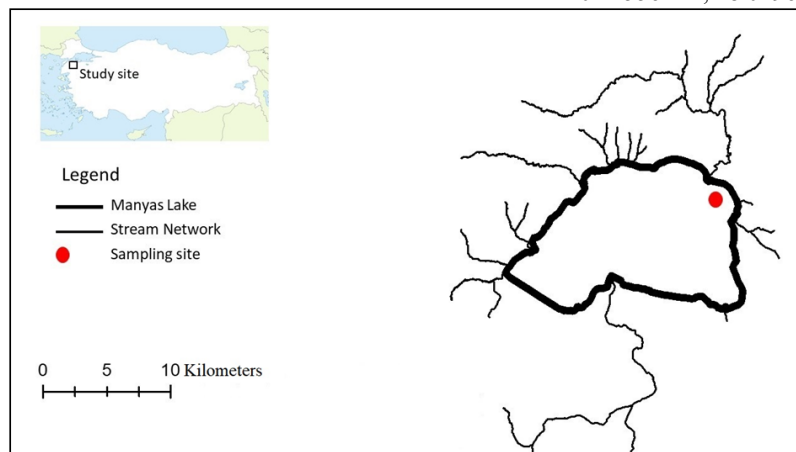


Figure 1. The sampling area in the Manyas Lake

The fish specimens were killed with an overdose anaesthesia (clove oil) and then immediately transferred to the Laboratory of Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences Department Freshwater Resources and Management with cold conditions. The fish samples were measured for total length (TL) to the nearest 0.1 cm and weighed for total body weight (W) on a digital balance with a 0.01 g accuracy.

3. Results

During the routine ichthyological surveys in the Manyas Lake, three non-native species, *C. gibelio*, *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 and *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846), and nine native fishes (*A. carinatus*, *B. bjoerkna*, *C. puncticulata*, *K. longicaudata*, *N. fluviatilis*, *R. rutilus*, *S. erythrophthalmus*, *R. amarus*, and *P. semilunaris*) were caught. *Gambusia holbrooki* and *P. parva* were recorded for the first time for the Manyas Lake (Figure 2, Figure 3). The individual numbers, body size, and weight distributions and sampling dates of these fishes were listed in Table 1.

Table 1. The individual numbers (n), length (TL) and weight (W) distributions, and sampling dates of fishes caught in the Manyas Lake (a: electro-shocker, b: cast-net, c: scoop-net)

Fish Species	n	TL, cm min – max	W, g min – max	Sampling Dates
<i>Carassius gibelio</i> ^{a, b}	56	4.3 – 13.1	1.68 – 38.54	12.06.2019; 24.07.2019; 21.08.2019
<i>Gambusia holbrooki</i> ^{b, c}	95	1.7 – 3.5	0.04 – 0.72	24.07.2019; 21.08.2019
<i>Pseudorasbora parva</i> ^{a, b}	25	2.6 – 9.9	0.15 – 11.15	18.04.2019; 21.08.2019
<i>Alburnus carinatus</i> ^a	60	9.0 – 11.9	12.45 – 32.03	18.04.2019; 16.05.2019; 12.06.2019; 24.07.2019
<i>Blicca bjoerkna</i> ^a	85	9.6 – 23.1	9.13 – 159.29	18.04.2019; 16.05.2019; 12.06.2019; 24.07.2019; 21.08.2019
<i>Cobitis puncticulata</i> ^b	1	3.7	0.51	21.08.2019
<i>Knipowitschia longicaudata</i> ^b	22	2.5 – 3.4	0.11 – 0.38	21.08.2019
<i>Neogobius fluviatilis</i> ^{a, b}	17	8.9 – 15.4	8.54 – 47.44	18.04.2019; 16.05.2019; 12.06.2019
<i>Rutilus rutilus</i> ^a	78	9.5 – 21.1	8.83 – 117.58	18.04.2019; 16.05.2019; 12.06.2019; 24.07.2019; 21.08.2019
<i>Scardinius erythrophthalmus</i> ^{a, b}	21	4.4 – 21.7	0.86 – 132.51	18.04.2019; 24.07.2019; 21.08.2019
<i>Rhodeus amarus</i> ^b	43	2.1 – 3.9	0.09 – 2.90	21.08.2019
<i>Proterorhinus semilunaris</i> ^{b, c}	10	2.7 – 4.4	0.18 – 0.93	21.08.2019

Figure 2. *Gambusia holbrooki* Girard, 1859, male, 2.9 cm TL, Manyas Lake, 2019



Figure 3. *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846), male, 8.0 cm TL, Manyas Lake, 2019

4. Conclusions and discussion

In order to obtain the safe withdrawal amount from fish stocks within sustainable limits, it is important to quantify the fish populations, especially their species and size compositions, at intervals. The contribution of the Manyas Lake, which provides valuable ecosystem services as a lake-wetland complex, to local fisheries is also very important. Therefore, it is critical to monitor the dynamics of the lake in order to obtain a sustainable maximum efficiency from the lake.

The presence of invasive *C. gibelio* in the Manyas Lake was already reported in the 2000s [18], but the other invasive fishes, *G. holbrooki* and *P. parva* were notified for the first time with this study. With these invasive fish records, a new one has been added to the threats for the future of the lake. According to the information from the local fishermen, *C. gibelio* has rapidly increased the size of the population after introduction into the lake and became one of the most intensively hunted fish species. However, nowadays it is postulated that the population density of this invasive fish has decreased with the excessive fishing pressure on it.

In this study, the use of different fishing gear allowed different fish species to be caught: invasive *C. gibelio* and *P. parva* were caught with electro-shocker and cast-nets, while *G. holbrooki* was caught with electro-shocker and scoop-net (Table 1). Failure to catch some of the previously reported fishes (such as *B. niluferensis*, *O. simavicus*, and *A. bipunctatus*) from the lake basin is related to the fact that these species mostly prefer the streams. Catch per unit effort (CPUE) values of fishes were not calculated because they were caught with three different fishing equipment. Although their abundance cannot be calculated, the individual numbers and size ranges of both endemic and native fishes of the lake are quite satisfactory (Table 1). Unfortunately, the catch of the individuals of the two new invasive species in different size ranges (*P. parva*, 2.6 – 9.9 cm, TL; *G. holbrooki*, 1.7 – 3.5 cm, TL) indicates that they have successfully reproduced and colonized in this lake.

Small bodied *G. holbrooki* is originally native to the coastal regions of south-eastern United-States and it has been intentionally or accidentally introduced throughout worldwide especially the warm temperate and tropical regions [19, 20]. Intentional introductions of this mosquitofish were undertaken for using it as a biological control agent for the prevention of malaria threats [21, 22]. Some features of this species such as having a high level of plasticity and survival capability, colonizing easily to new habitats, withstanding wide ranges of temperature and salinity and surviving in heavily polluted waters are effective in spreading through wide areas [23, 24]. According to the Global Invasive Species Program (GISP), *G. holbrooki* is one of the world's 100 worst invasive alien species [25]. There are some records that confirm its negative effects and predatory behaviour on many native fish, amphibians and invertebrates; such as eating the eggs and larvae of fishes or amphibians and competing with native fishes for food resources through niche overlap [26, 27]. Rincón et al. [28] mentioned that *G. holbrooki* had an impact on seriously threatening endemic species, most notably *Aphanius* and *Valencia* species, in Europe. Similarly, it is thought that this invasive fish, which reproduces several times a year, may increase its population size and can create pressure on native and endemic fish species living in Manyas Lake with food and habitat competition.

The topmouth gudgeon *P. parva*, a small freshwater species originating from East Asia (Japan, China, Korea, and the River Amur), is an invasive species that was introduced to many countries in different continents accidentally [29]. The primary pathway of *P. parva* introduction into its expanded range is the accidental transfer and release of this fish within the translocations of native fishes for aquaculture activities [30]. The most remarkable threat of this fish, showing a rapid colonization success in new habitats, is to carry non-native pathogens for native fauna besides the risk of food and space competition [29]. *Pseudorasbora parva* is a healthy carrier of the rosette agent *Sphareothecum destruens* that is a fungal disease and a potential threat to native fish biodiversity [31, 32]. This agent was first identified in Europe in 2005 as a disease threat to endangered native fish *Leucaspisus delineatus* and it caused a large increase in fish mortality [33]. In Turkey, the emergence of *S. destruens* was detected in 2017 and it associated with severe declines

in endemic fish species in the wild [31]. In Manyas Lake, where small-scaled fishery is carried out on local fish species, it is thought that this invasive fish *P. parva* with a high deadly pathogen risk may have a negative effect on native and endemic fish populations.

In conclusion, for the future of the endemic and native fishes living in the Manyas Lake, risk assessment analyses are essential for these invasive species identified. According to IUCN Red List [34, 35], two endemic fish species living in the lake basin are classified as threatened; *A. carinatus* as Endangered (EN) and *O. simavicus* as Critically endangered (CR). Firstly, the population sizes of the endemic and native fishes should be determined and the changes over the years should be followed. Additionally, pathogen emergence, which is caused by *P. parva*, in the native fish populations should be investigated. These invasive fishes can be taken under biological control by the carnivorous fish species of the lake, *E. lucius* and *S. glanis*, and the waterfowls that put pressure on them. For this reason, prey-predator relationships should be revealed in the lake ecosystem. It is also pretty important to take the necessary precautions to prevent the existence of endemic and native fishes living in the lake from being threatened by invasive fish species.

Acknowledgements

This study was supported within the scope of the TÜBİTAK-1003 Project entitled “Development of an Integrated Ecosystem Modelling Based Decision Support System for Management of Manyas Lake Watershed” (No: 116Y406). We would like to thank Ali Özgen, who is the local fisherman, and Burak Kaynaroğlu for helping during the field surveys.

References

- [1] Gozlan, R. E. (2008). Introduction of non-native freshwater fish: is it all bad? *Fish and Fisheries*, 9, 106-115. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2007.00267.x>
- [2] Gozlan, R. E., Britton, J. R., Cowx, I. & Copp, G. H. (2010). Current knowledge on non-native freshwater fish introductions. *Journal of Fish Biology*, 76, 751-786. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02566.x>
- [3] Tarkan, A. S. (2013). Introduction pathways, impacts and protection measures of non-native freshwater fishes in Turkey and the world. *Istanbul University Journal of Fisheries Aquatic Sciences*, 28, 63-104. (in Turkish).
- [4] Courtenay, W. R. & Moyle, P. B. (1992). Crimes against biodiversity – the lasting legacy of fish introductions. In: Transactions of the Fifty-Seventh North American Wildlife and Natural Resources Conference (ed R.E. McCabe). Wildlife Management Institute, Washington, pp. 365-372.
- [5] Copp, G. H., Bianco, P. G., Bogutskaya, N. G., Erős, T., Falka, I., Ferreira, M. T., Fox, M. G., Freyhof, J., Gozlan, R. E., Grabowska, J., Kováč, V., Moreno-Amich, R., Naseka, A. M., Peňáz, M., Povz, M., Przybylski, M., Robillard, M., Russell, I. C., Stakénaš, S., Šumer, S., Vila-Gispert, A. & Wiesner, C. (2005). To be, or not to be, a non-native freshwater fish? *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 242-262. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2005.00690.x>
- [6] Ramler, D. & Keckeis, H. (2019). Occurrence of non-native fishes in the Danube east of Vienna (Austria) and potential interactions of invasive gobiids with native fishes. *Journal of Applied Ichthyology*, 35, 850-862. <https://doi.org/10.1111/jai.13916>
- [7] van Zwieten, P. A. M., Kolding, J., Plank, M. J., Hecky, R. E., Bridgeman, T. B., MacIntyre, S., Seehausen, O. & Silsbe, G. M. (2016). The Nile perch invasion in Lake Victoria: cause or consequence of the haplochromine decline? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2016, 73(4), 622-643. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2015-0130>
- [8] Kitchell, J. F., Schindler, D. E., Ogotu-Ohwayo, R. & Reinthal, P. N. (1997). The Nile perch in Lake Victoria: interactions between predation and fisheries. *Ecological Applications*, 7, 653-664. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1997\)007\[0653:TNPILV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1997)007[0653:TNPILV]2.0.CO;2)
- [9] Arslan, N., Uluküttük, S. & Mercan, D. (2018). Assessment of water quality in three sub-basins of Susurluk River (Northwest Anatolia) according to invertebrates and biotic indices. *Biological Diversity and Conservation*, 11 (3), 1-8.
- [10] Yenyurt, C. & Hemmami, M. (2011). Ramsar sites of Turkey. Doğa Derneği Publications, Ankara, Turkey.
- [11] Arı, Y. (2019). Fisheries in Lake Manyas (Balıkesir): Culture, ecology and sustainability. *Aegean Geographical Journal*, 28 (2), 179-198. (in Turkish)
- [12] Kosswig, C. (1939). Faunengeschichte der Bosphorus Region. Cr. Ann. Et. Arch. Soc. Turquie Sci. Phys. Et. Nat. VII.
- [13] Balık, S. & Ustaoglu, M. R. (1990). Kuş Gölü (Bandırma) sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) popülasyonunun biyo-ekolojik özelliklerinin incelenmesi. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, 18-20 Temmuz 1990, Erzurum, Zooloji Bildirileri, 4, 271-282. (in Turkish)
- [14] Turan, D., Berber, S., Topkara, E., T. & Verep, B. A. (2005). First record (*Knipowitschia longicaudata* (Kessler, 1877)) for the fish fauna of Lake Manyas. *Turkish Journal of Zoology*, 29, 171-176.
- [15] Turan, D., Ekmekçi, F. G., Kaya, C. & Güçlü, S. S. (2013). *Alburnoides manyasensis* (Actinopterygii, Cyprinidae), a new species of cyprinid fish from Manyas Lake basin, Turkey. *ZooKeys*, 276, 85-102. <https://doi.org/10.3897/zookeys.276.4107>

- [16] Albay, M. & Akçaalan, R. (2003). Comparative study of periphyton colonisation on common reed (*Phragmites australis*) and artificial substrate in a shallow lake, Manyas, Turkey. *Hydrobiologia*, 506–509, 531–540. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000008606.69572.f6>
- [17] Dorak, Z., Köker, L., Sağlam, O., Akçaalan, R. & Albay, M. (2017). Determination of zooplankton community structure, biomass and trophic state of a shallow turbid lake. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(1A), 834–845.
- [18] Emiroğlu, Ö., Arslan, N., Malkoç, S., Koç, B. & Çiçek, A. (2008). Determination of cadmium levels in lake water, sediment, meiobenthos (Chironomidae) and three fish species from Lake Uluabat (a Ramsar site in Turkey). *EIFAC Occasional Paper*, 44, 263.
- [19] Crivelli, A. J. & Boy, V. (1987). The diet of the mosquitofish *Gambusia affinis* (Baird & Girard) (Poeciliidae) in Mediterranean France. *Revue D'Ecologie-La Terre Et La Vie*, 42, 421–435.
- [20] Singh, N. & Gupta, P. K. (2010). Reproductive biology of eastern mosquito fish *Gambusia holbrooki* (Girard) (Poeciliidae) in a sub-tropical Lake, Lake Nainital (India). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(4), 19–31.
- [21] García-Berthou, E. (1999). Food of introduced mosquitofish: Ontogenetic diet shift and prey selection. *Journal of Fish Biology*, 55, 135–147.
- [22] Yankova, M. (2016). Alien invasive fish species in Bulgarian waters: An overview. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(2), 282–290.
- [23] Alcaraz, C. & García-Berthou, E. (2007). Life history variation of invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) along a salinity gradient. *Biological Conservation*, 139, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.006>
- [24] Gkenas, C., Oikonomou, A., Economou, A., Kiosse, F. & Leonardos, I. (2012). Life history pattern and feeding habits of the invasive mosquitofish, *Gambusia holbrooki*, in Lake Pamvotis (NW Greece). *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 17, 121–136.
- [25] Global Invasive Species Database, 2019; <http://www.iucngisd.org/gisd/> [accessed date: 25 October 2019]
- [26] Hurlbert, S.H., Zedler, J. & Fairbanks, D. (1972). Ecosystem alteration by mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation. *Science*, 175, 639–641.
- [27] Kats, L. B. & Ferrer, R. P. (2003). Alien predators and amphibian declines: Review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions*, 9, 99–110. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2003.00013.x>
- [28] Rincón, P. A., Correas, A. M., Morcillo, F., Risueño, P. & Lobón-Cerviá, J. (2002). Interaction between the introduced eastern mosquitofish and two autochthonous Spanish toothcarps. *Journal of Fish Biology*, 61, 1560–1585. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb02498.x>
- [29] Gozlan, R. E., Pinder, A. C. & Shelley, J. (2002). Occurrence of the Asiatic cyprinid *Pseudorasbora parva* in England. *Journal of Fish Biology*, 61, 298–300. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01755.x>
- [30] Gozlan R. E., Andreou, D., Asaeda, T., Beyer, K., Bouhadad R., Burnard, D., Caiola, N., Cakic, P., Djikanovic, V., Esmaili, H. R., Falka, I., Golicher, D., Harka, A., Jeney, G., Kováč, V., Musil, J., Nocita, A., Povz, M., Poulet, N., Virbickas, T., Wolter, C., Tarkan, A. S., Tricarico, E., Trichkova, T., Verreycken, H., Witkowski, A., Zhang, C., Zweimmueller, I. & Britton, J. R. (2010). Pan-continental invasion of *Pseudorasbora parva*: towards a better understanding of freshwater fish invasions. *Fish and Fisheries*, 11, 315–340. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2010.00361.x>
- [31] Ercan, D., Andreou, D., Sana, S., Öntaş, C., Baba, E., Top, N., Karakuş, U., Tarkan, A. S. & Gozlan, R. E. (2015). Evidence of threat to European economy and biodiversity following the introduction of an alien pathogen on the fungal-animal boundary. *Emerging Microbes & Infections*, 2015, 4, e52. <https://doi.org/10.1038/emi.2015.52>
- [32] Sana, S., Hardouin, E. A., Gozlan, R. E., Ercan, D., Tarkan, A. S., Zhang, T. & Andreou, D. (2017). Origin and invasion of the emerging infectious pathogen *Sphaerothecum destruens*. *Emerging Microbes & Infections*, 6, e76. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.64>
- [33] Gozlan R. E., St-Hilaire, S., Feist, S. W., Martin, P. & Kent, M. L. (2005). Biodiversity: Disease threat to European fish. *Nature*, 435, 1046.
- [34] Freyhof, J. (2014). *Alburnus carinatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T19018407A19222763. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T19018407A19222763.en>. [accessed date: 20 April 2020]
- [35] Crivelli, A. J. (2006). *Oxynoemacheilus simavica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006: e.T61347A12465793. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T61347A12465793.en>. [accessed date: 20 April 2020]



The flora of Kızıldağ Higlands (Adana) and environments (Adana/Turkey)

Ali KESKİN^{*1}, Ahmet SAVRAN¹
ORCID: 0000-0001-8980-5005; 0000-0002-6326-7592

¹ Nigde University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 51110, Nigde, Turkey

Abstract

This research was carried out for the purpose of determining the flora of Kızıldağ Higlands (Adana) and its environments which located in section 6b (section Adana) between 2010 and 2013. 1000 plant specimens were collected from the research area. As a consequence, according to evaluating of specimens 75 families, 285 genera and 574 taxa were identified. These four taxa belong to Pteridophyta and 570 taxa belong to Spermatophyta divisio. Gymnospermaesub divisio represented by 12 taxa and Angiospermaesub divisio represented by 558 taxa from among 570 taxa belong to Spermatophytadivisio. Angiospermaesub divisio is consisted of 484 members of Magnoliopsida and 74 members of Liliopsida classis. 100 taxa collected are endemic for Tehe area locatad of plants hunders plant endemism (% 17, 5). It is determined that 25 taxa are new record for section 6b. One of the most important result of research is the presenting of the plant “*Lysimachia savranii* Başköse& Keskin”.

Key words: Kızıldağ higlands, flora, endemic, section 6b

----- * -----

Kızıldağ yayla (Adana) ve çevresinin florası (Adana/Türkiye)

Özet

Bu araştırma 2010–2013 yılları arasında 6b bölümünde (Adana bölümü) yer alan Kızıldağ Yayla (Adana) ve çevresinin florasını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Araştırma alanından 1000 bitki örneği toplanmış ve değerlendirme sonucunda; 75 familyaya ait, 285 cins ve 574 takson teşhis edilmiştir. Bunlardan 4 tanesi Pteridophyta, 570 tanesi Spermatophyta diviziyosunda yer almaktadır. Bu 570 taksonun 12’i Gymnospermae, 558’i ise Angiospermae alt diviziyosuna aittir. Angiospermae da bulunan taksonların 484’ü Dicotyledones, 74’ü Monocotyledones sınıfı üyeleri oluşturmaktadır. Alanda bulunan bitkilerden 100’ünün (% 17,5) endemik, 25’inin 6b bölümü için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmanın en önemli sonuçlarından biride “*Lysimachia savranii* Başköse& Keskin” taksonunun yeni tür olarak bilim dünyasına tanıtılması olmuştur.

Anahtar kelimeler: Kızıldağ yayla, Flora, Endemik, 6b Bölümü

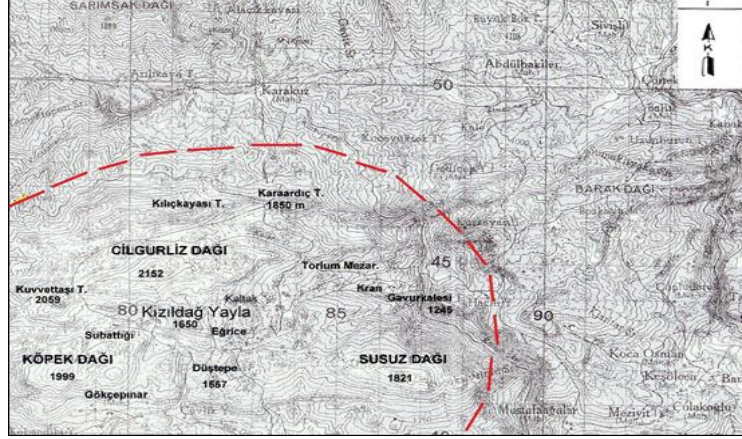
1. Giriş

Türkiye konumu ve topoğrafik özellikleri itibarıyla bitki zengini bir ülkedir. Türkiye’de 2012 verileri ve 2012 den 2017 kadar yapılan flora yayınlarına göre; 11959 civarında damarlı bitki taksonu bulunmaktadır. Bunlardan 3240 türün endemik olması Türkiye florasının değerini arttırmaktadır. Belirtilen sayısal değerlerde görüldüğü gibi % 31,12’lik oranı ile Türkiye’nin endemik türleri Avrupa kıtasından (2778) daha fazladır. Bu taksonların % 40’ı İç ve Doğu Anadolu’yu kapsayan İran-Turan Fitocoğrafik Bölgesinde, % 34’ü Akdeniz Fitocoğrafik Bölgesinde, % 10’u ise Avrupa-Sibirya Fitocoğrafik Bölgesinde yayılış göstermekte ve %16’sı ise bitki coğrafyası belli olmayan endemik türlerdir [12, 13]. Buradan hareketle, Türkiye florasına katkı sağlayabilmek ve 6b Adana bölümüne yeni bitki kayıtları kazandırmak amacıyla Kızıldağ Yayla (Adana) ve çevresinin florası araştırılmıştır.

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905056844317; Fax.: +905056844317; E-mail: biyologalikeskin@gmail.com

1.1. Çalışma alanının coğrafik durumu

Çalışma alanı Kızıldağ Yayla, 37° 23' - 37° 26' kuzey enlemleri ile 34° 52' - 34° 59' doğu boylamları arasında, Adana ili (6b bölümü) Karaisalı ilçesinin kuzeybatısında yer almaktadır. Doğusunu Susuz Dağı (2000 m), kuzeyini Cilgürliz Dağı (2100 m) ve güneyinde Köpek Dağı (1750 m) çevrelemektedir (Şekil 1.1). Alan 1500-1600 m yüksekliğe sahiptir.



Şekil 1.1. N-34 numaralı pafta üzerinde çalışma alanının topoğrafik haritası (MTA 1996) [3]

Vejetasyon örtüsü olarak *Abies*, *Cedrus* ve *Pinus* türlerinin oluşturduğu tarlalar ortasında kalmış ormanlar dikkati çekmektedir. Step vejetasyonu yönünden oldukça zengindir ve ayrıca kaya, orman ve su vejetasyonu içermektedir. Alanın 1700 m' lerden sonraki kesimlerini subalpinin özelliği olan çıplak kayalıklar meydana getirmektedir. Çalışma alanı Akdeniz bölgesi (6) Adana bölümünde (6b) Akdeniz fitocoğrafik bölgesi içerisinde bulunmaktadır [16]. Eteklerinde çalı formasyonları, bunu takiben orman zonu, 1900 metrelerden sonra subalpinin otsu ve yastık bitkileri hayat bulmaktadır. Kızıldağ Yaylada küçük dereler de mevcuttur. Bunlardan Güney ve Güneydoğuya bakan derelerin çoğu Su Battığı denilen bir alanda yer altına akmaktadır. Batısında bulunan Akpınar dere Meydan Yayladan doğar ve Karaçay kapuz deresine karışır.

1.2. Çalışma alanının jeolojisi

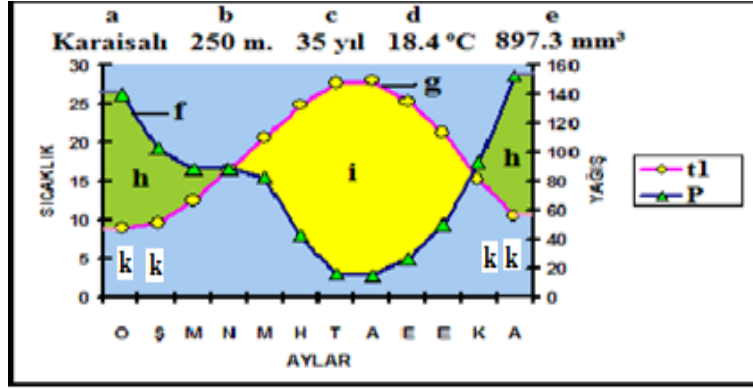
Araştırma alanına ilişkin jeolojik bilgiler, "Kızıldağ Yayla (Adana) Dolayının Stratigrafisi" adlı rapor esas alınarak verilmiştir. Kızıldağ Yaylası ve çevresinin; Kızıldağ melanjı, Demirkazık kireçtaşı ve Yavça formasyonuna ait jeolojik yapılardan oluştuğu belirtilmektedir [22].

1.3 Çalışma alanının iklimsel özellikleri

Çalışma alanının, Karaisalı'ya yakın olmasına rağmen yükseltisinin fazla olması (1200-2200 m) nedeniyle yağışlı, yarı kurak, Üst Çok Soğuk Akdeniz Biyoiklim Katı özelliği gösterir. Çalışma alanının iklimsel özellikleri tablo 1.1' de görülmektedir.

Tablo 1.1. Çalışma alanının iklimsel özellikleri

İstasyon Adı	Rakım (m.)	P	PE	M	m	S	Q	Biyoiklim katı
Karaisalı	250	897,3	73,4	34,4	5,6	2,13	85,39	Az yağışlı, kışı yumşak Akdeniz iklimi
Pozantı	750	719,9	21,4	32,0	- 1,9	0,66	68,38	Az yağışlı, kışı soğuk Akdeniz iklimi



Şekil 1.2. Karaisalı ilçesine ait ombro-termik iklim diyagramı (a= İstasyon adı, b= İstasyon rakımı, c= Rasat süresi (Sıcaklık-Yağış), d= Yıllık ortalama sıcaklık, e= Toplam yıllık yağış ortalaması, f= Yağış eğrisi, g= Sıcaklık eğrisi, h= Yağışlı dönem, i= Kurak dönem, k= Don ihtimali olan aylar).

Çalışma alanına ilişkin iklim bilgileri, “Akdağ (Pozantı-Adana) ve Çevresinin Florası” adlı tez’ den alınan veriler kullanılarak hazırlanmıştır [1]. İklimsel verilerin yorumlanmasında, Akman’ın “İklim ve Biyoiklim” adlı eserinden yararlanılmıştır [2]. İstasyonlara ait yıllık ortalama sıcaklık ve yıllık toplam yağış miktarlarını gösteren veriler kullanılarak GAUSSEN Kuralına göre kurak devreyi ve süresini belirlemek amacıyla istasyonların Ombro-Termik iklim diyagramları çizilmiştir ve şekil 1.2’ de gösterilmiştir. Alanda yağışların Ekim, Kasım, Aralık, Ocak, Şubat, Mart, Nisan ve Mayıs aylarında, kurak mevsimin Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında görülmektedir. Ayrıca Kasım, Aralık, Ocak, Şubat ve Mart aylarında don mevcuttur.

2. Materyal ve yöntem

Çalışmanın materyalini, 2011-2013 yılları arasında bitkilerin vejetasyon döneminde gerçekleştirilen arazi gezilerinde toplanan 1000 bitki örneği oluşturmaktadır. Toplanan örneklerin özellikle kök, gövde, çiçek ve meyveli alınmasına ve soğanlı veya yumrulu bitkilerin toprak altı kısımları ile birlikte çıkarılmasına dikkat edilmiştir. Ağaç ve çalılarından örnek almak için meyveli dönemlerde arazi gezileri yapılarak herbarium için uygun parçalar kesilerek alınmıştır. Presleme sırasında örnekler numaralandırılarak, çiçek rengi ve meyve yapısı gibi değişebilecek bazı özellikleri ile birlikte toplanma tarihleri, habitat durumları ve yükselteleri arazi defterine not edilmiştir. Herbarium ortamında kurutulan örnekler familya ve cins düzeyinde tasnif edilmiştir. Türlerin teşhisinde Türkiye Florası [10; 14] başta olmak üzere, bazı revizyon, tez ve diğer çalışmalardan [4, 7, 9, 10, 11, 13, 17, 18] ve Resimli Türkiye Florası Cilt II’ den [16] yararlanılmıştır. Tayin ve teşhis edilen taksonlar herbarium kartonlarına yapıştırılarak etiketlenerek Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi herbarium dolaplarına yerleştirilmiştir. Bulgular bölümünde Familya sıralaması APG III-2009 sistemine göre yapılmıştır [23]. Örneklerin cins, tür ve otör adları yazılırken “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” esas alınmıştır [15]. Taksonlara ait lokalite bilgileri (Türkiye bitki coğrafyası haritasına göre yer aldığı bölge, il, köy, yer veya mevki ve yükselti) bir liste yapılarak numaralandırılmıştır. Bu numaralar ile birlikte, toplama tarihi, toplayıcı adı, stok numarası, endemizm durumu ve fitocoğrafik bölgesi şeklinde sıralanarak verilmiştir. Taksonların tehlike kategorileri NGBB ve ANG Vakfı, Tehdit Altında Bitki Türleri Listesi göre belirlenmiştir [19]. Araştırma alanında 30 farklı istasyondan bitki toplanmış olup, istasyonların listesi Tablo 2.1’ de verilmiştir.

N O.	6 b Adana; Karaisalı, Kızıldağ Yayla,	NO.	6b Adana; Karaisalı, Kızıldağ Yayla,
1.	Bozsivri, 1200 m	13.	Subattığı güneyi, 1600-1800 m
2.	Kuvvettaş tepesi, 2010 m	14.	Subattığı doğusu, 1510 m
3.	Köpek dağı batısı, 1990 m	15.	Cilgurliz eteği, Yavşan mevkii, 1650-1800 m
4.	Köpek dağı doğusu, 1992 m	16.	Cilgurliz doğusu, 2100 m
5.	Soğanoluğu çeşmesi mevkii, 1650 m	17.	Düş tepe, 1550 m
6.	Kaltak Yayla, 1450-1500 m	18.	Yukarı meydan, Meydan kalesi, 1600-1800 m
7.	Akpınar güneyi, 1500 m	19.	Kızıldağ Yayla batısı, 1650 m
8.	Akpınar kuzeyi, 1500 m	20.	Pozantı yolu, Kanlı çınar (çamlık alan), 1200 m
9.	Akpınar batısı, 1300 m	21.	Pozantı yolu, Kanlı çınar (çamlık ormanı alanı ve tarlalık alan), 1400 m
10.	Karaçay batısı, 1300 m	22.	Karaardıç tepesi, 1850 m
11.	Karaçay güneyi, 1300 m	23.	Gâvur kalesi, 1240 m
12.	Susuz dağı batısı, 1821 m	24.	Susuz dağı kuzey yamaçları, Koyun kırkacağı mevkii, 1500-1550 m

3. Bulgular

3.1 Bitki Listesi

- PTERIDOPHYTA** / EĞRELTİ BÖLÜMÜ
EQUISETIDAE / ATKUYRUĞU ALTSİNİFİ
EQUISETACEAE / ATKUYRUĞUGİLLER
EQUISETUM L. / ATKUYRUĞU.
Equisetum ramosissimum Defs.; 2, 15.05.2012, Keskin, 901.
- POLYPODIIDAE** / EĞRELTİ ALTSİNİFİ
ASPLENIACEAE / SAÇAKOTUGİLLER
ASPLENIUM L. / SAÇAKOTU.
Asplenium ceterach DC.; 3, 14.05.2012, Keskin, 613.
- DRYOPTERIDACEAE** / PİLUNÇGİLLER
DRYOPTERIS Adans. / PİLUNÇ.
Dryopteris filix-mas (L.) Schott; 5, 02.07.2011, Keskin, 308; 7, 21.06.2012, Keskin, 902.
D. pallida (Bory) Fomin; 12, 14.06.2011, Keskin, 213. Akd.
- MAGNOLIOPHYTA (SPERMATOPHYA)** / TOHURLU BİTKİLER BÖLÜMÜ
PINOPHYTINA (GYMNOSPERMAE) / AÇIKTOHURLULAR ALTBÖLÜMÜ
PINOPSIDA / ÇAM SINIFI
PINIDAE / ÇAMLAR ALTSİNİFİ
PINALES / ÇAM TAKIMI
PINACEAE / ÇAMGİLLER
ABIES Miller. / GÖKNAR.
Abies cilicica (Ant. & Kotschy) Carrière; 7, Keskin, 903. D. Akd.
CEDRUS Link./ SEDİR.
Cedrus libani A. Rich var. *libani*; 12, 14.06.2011, Keskin, 214. Akd.
PINUS L. / ÇAM.
Pinus nigra J.F.Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.); 10, 22.10.2011, Keskin, 556.
P. brutia Ten. var. *brutia* f. *brutia*; 2, 15.05.2012, Keskin, 665. D. Akd.
P. pinea L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 666.
- CUPRESSOPSIDA** / SERVİ SINIFI
CUPRESSALES / SERVİ TAKIMI
CUPRESSACEAE / SERVİGİLLER
JUNIPERUS L. / SERVİ.
Juniperus drupacea Lab.; 12, 14.06.2011, Keskin, 215.
J. communis L. subsp. *saxatilis* (Pall.) E Murray; 4, 13.06.2011, Keskin, 142.
J. oxycedrus L. subsp. *oxycedrus*; 12, 14.06.2011, Keskin, 216; 2, 15.05.2012, Keskin, 677.
J. foetidissima Willd.; 2, 15.05.2012, Keskin, 678.
J. excelsa M. Bieb.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 583. Ir.-Tur.
- GNETOPSIDA** / DENİZÜZÜMÜ SINIFI
GNETIDAE / DENİZÜZÜMÜ ALTSİNİFİ
GNETIALES / DENİZÜZÜMÜ TAKIMI
EPHEDRACEAE / DENİZÜZÜMÜGİLLER
EPHEDRA L. / DENİZÜZÜMÜ
Ephedra major Host.; 3, 14.05.2012, Keskin, 614.
- MAGNOLIOPHYTINA (ANGIOSPERMAE)** / KAPALI TOHURLULAR ALTBÖLÜMÜ
MAGNOLIOPSIDA / MANOLYA SINIFI
MAGNOLIIDAE / MANOLYA ALTSİNİFİ
ARISTOLOCHACEAE / LOHUSAOTUGİLLER
ARISTOLOCHIA / LOHUSAOTU.
Aristolochia maurorum L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 774. Ir.-Tur.
A. hirta L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 795. D. Akd. End.
- ARACEAE** / YILANYASTIĞIGİLLER
ARUM L. / YILANYASTIĞI.
Arum discorides Sm. in Sibth. & Sm. var. *syriacum* (Blume) Engier.; 18, 24.05.2011, Keskin, 122. D. Akd.
- COLCHICACEAE** / ACIÇIĞDEMİGİLLER
COLCHICUM L. / ACIÇIĞDEM.
Colchicum szovitsii Fisch. & Mey.; 23, 10.04.2012, Keskin, 606. Ir.-Tur.
C. triphyllum G. Kunze; 21, 02.07.2011, Keskin, 409; 22, 03.07.2011, Keskin, 551. Akd.
C. balancae Planchon; 6, 16.05.2012, Keskin, 827. D. Akd. Endemik. (LC).
C. speciosum Steven; 6, 16.05.2012, Keskin, 828; 21, 02.07.2011, Keskin, 411. Hirkan-Öksin
- LILIACEAE** / ZAMBAKGİLLER
EREMURUS Bieb. / ÇİRİŞ
Eremurus spectabilis Bieb.; 18, 24.05.2011, Keskin, 123. Ir.-Tur.
FRITILLARIA L. / TERSLALE.
Fritillaria aurea Schott; 16, 15.05.2012, Keskin, 658. Ir.-Tur. Endemik.
TULIPA L. / LALE.
Tulipa humilis Herbert; 18, 24.05.2011, Keskin, 135.
T. armena Boiss. var. *lycka* (Baker) Marais; 21, 02.07.2011, Keskin, 407. Endemik. (LC).
GAGEA Salisb. / SARIYILDIZ.
Gagea luteoides Stapf; 18, 24.05.2011, Keskin, 137.
G. fistulosa Ker-Gawler; 15, 23.05.2011, Keskin, 77.
G. guanatellii Parl.; 22, 03.07.2011, Keskin, 550. Akd.
- AMARYLLIDACEAE** / NERGİSGİLLER
ALLIUM L. / SOĞAN
Allium paniculatum L. subsp. *paniculatum*; 6, 16.05.2012, Keskin, 822. Akd.
A. sativum L.; 15, 23.05.2011, Keskin, 63.
A. scorodoprasum L. subsp. *scorodoprasum*; 6, 16.05.2012, Keskin, 839. Euro.-Sibr.
A. scorodoprasum L. subsp. *rotundum* (L.) Stearn.; 21, 02.07.2011, Keskin, 402. Akd.
A. sphaerocephalon L. subsp. *arvense* (Guss.) Arc.; 18, 24.05.2011, Keskin, 124. D. Akd.
A. vineale L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 845.
- STERNBERGIA** L. / KARANERGİS
Sternbergia clusiana (Ker-Gawler) Ker-Gawler ex Sprengel; 23, 10.04.2012, Keskin, 610. Ir.-Tur.
- ASPARAGACEAE** / KUŞKONMAZGİLLER
RUSCUS L. / TAVŞANMEMESİ
Ruscus aculeatus L. var. *angustifolius* Boiss.; 16, 15.05.2012, Keskin, 653.
MUSCARI Miller / MÜŞKÜRÜM.
Muscari tenuiflorum Tausch; 6, 16.05.2012, Keskin, 825.
M. longipes Boiss.; 21, 02.07.2011, Keskin, 405. Ir.-Tur.
M. massayanum Grunert; 6, 16.05.2012, Keskin, 840. Ir.-Tur. Endemik.
M. armeniacum Leichtl. ex Baker; 18, 24.05.2011, Keskin, 131.
M. botryoides (L.) Miller; 16, 15.05.2012, Keskin, 657.
M. racemosum Lam. & DC.; 18, 24.05.2011, Keskin, 133.
- ORNITHOGALUM** L. / AKYILDIZ.
Ornithogalum narbonense L.; 15, 23.05.2011, Keskin, 1; 6, 16.05.2012, Keskin, 824. Akd.
O. oligophyllum E. D. Clarke; 18, 24.05.2011, Keskin, 126; 21, 02.07.2011, Keskin, 403.
O. monthanum Cyr.; 18, 24.05.2011, Keskin, 128. D. Akd.
O. platyphyllum Boiss.; 18, 24.05.2011, Keskin, 129. Ir.-Tur.

- O. lanceolatum* Labill.; 6, 16.05.2012, Keskin, 846; 16, 15.05.2012, Keskin, 654. D. Akd.
- O. ulophyllum* Hand.-Mazz.; 18, 24.05.2011, Keskin, 130.
- O. umbellatum* L.; 15, 23.05.2011, Keskin, 11.
- O. orthophyllum* Ten.; 16, 15.05.2012, Keskin, 655.
- SCILLA L. / SÜMBÜLCÜK.**
- Scilla bifolia* L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 125. Akd.
- S. cilicica* Siehe; 6, 16.05.2012, Keskin, 823. D. Akd.
- HYACINTHELLA** Schur. / DAĞSÜMBÜLÜ.
- Hyacinthella hispida* (J.Gay) Chouard; 6, 16.05.2012, Keskin, 826. D. Akd. Endemik.
- H. glabrescens* (Boiss.) K.Persson & Wendelbo; 21, 02.07.2011, Keskin, 406. D. Akd. Endemik.
- XANTHORRHOACEAE / ÇİRİŞGİLLER**
- ASPHODELINE** Reichb. / DELİ ÇİRİŞ.
- Asphodeline rigidifolia* (Boiss.) Baker; 6, 16.05.2012, Keskin, 821. Ir.-Tur. Endemik.
- A. damascena* (Boiss.) Baker subsp. *damascena*; 10, 22.10.2011, Keskin, 580. Ir.-Tur.
- IRIDACEAE / SÜSENGİLLER.**
- IRIS L. / SÜSEN.**
- İris sari* Schott ex Baker; 18, 24.05.2011, Keskin, 138. Ir.-Tur. Endemik.
- CROCUS L. / ÇİĞDEM.**
- Crocus kotschyanus* C. Koch subsp. *kotschyanus*; 23, 10.04.2012, Keskin, 607.
- C. biflorus* Miller subsp. *tauri* (Maw) Mathew; 23, 10.04.2012, Keskin, 608. Ir.-Tur.
- C. speciosus* Bieb. subsp. *speciosus*; 21, 02.07.2011, Keskin, 412; 23, 10.04.2012, Keskin, 609.
- GLADIOLUS L. / KILIÇOTU**
- Gladiolus atrovioleaceus* Boiss.; 16, 15.05.2012, Keskin, 660. Ir.-Tur.
- ORCHIDACEAE / SALEPGİLLER.**
- CEPHALANTHERA L. / ÇAMÇİÇEĞİ**
- Cephalanthera kurdica* Bornm. ex Kranzlin; 16, 15.05.2012, Keskin, 661. Ir.-Tur.
- C. rubra* (L.) L. C. M Richard.; 21, 02.07.2011, Keskin, 413; 21, 02.07.2011, Keskin, 414.
- ORCHIS L. / SALEP.**
- Orchis lactea* Poiret; 21, 02.07.2011, Keskin, 415. Akd.
- O. laxiflora* Lam.; 21, 02.07.2011, Keskin, 416. Akd.
- DACTYLORHIZA** Necker ex Nevski / BALKAYMAKSALEBİ.
- Dactylorhiza iberica* (Bieb. ex Willd.); 10, 22.10.2011, Keskin, 582. D. Akd.
- CYPERACEAE / HASIROTUGİLLER.**
- SCIRPOIDES L. / VURLA**
- Scirpoides holoschoenus* (L.) Sojak.; 23, 10.04.2012, Keskin, 611.
- BLYSMUS L. / YASSIHASIROTU.**
- Blysmus compressus* (L.) Panzer ex Link; 16, 15.05.2012, Keskin, 662. (EN).
- CAREX L. / AYAKOTU**
- Carex distans* L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 140. Avr.-Sibir.
- POACEAE (GRAMINEAE) / BUĞDAYGİLLER.**
- AEGILOPS L. / BUĞDAYANASI**
- Aegilops cylindrica* Host; 6, 14.06.2011, Keskin, 300. Ir.-Tur.
- TRITICUM L. / BUĞDAY**
- Triticum aestivum* L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 829.
- SECALE L. / ÇAVDAR**
- Secale anatolicum* Boiss.; 6, 14.06.2011, Keskin, 301.
- HORDEUM L. / ARPA**
- Hordeum bulbosum* L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 141.
- BROMUS L. / İBUBUKEKİNİ.**
- Bromus tectorum* L.; 21, 02.07.2011, Keskin, 417.
- B. tomentollus* Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 64; 6, 14.06.2011, Keskin, 303. Ir.-Tur.
- KOELERIA L. / KIRNAL**
- Koeleria cristata* (L.) Bertol.; 7, 21.06.2012, Keskin, 887.
- ALOPECURUS L. / TİLKİKUYRUĞU.**
- Alopecurus arudinaceus* Poiret; 15, 23.05.2011, Keskin, 67. Euro.-Sibir.
- A. gerardii* Vill. var. *gerardii*; 6, 16.05.2012, Keskin, 841. Akd.
- FESTUCA L. / YUMAK.**
- Festuca valesiaca* Schleicher ex Gaudin; 7, 21.06.2012, Keskin, 888.
- LOLIUM L. / ÇİM**
- Lolium perenne* L.; 21, 02.07.2011, Keskin, 418. Euro.-Sibir.
- POA L. / SALKIMOTU.**
- Poa trivialis* L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 889.
- P. longifolia* Trin.; 6, 16.05.2012, Keskin, 31. Oksin
- P. compressa* L.; 21, 02.07.2011, Keskin, 419.
- P. alpina* L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 305.
- P. bulbosa* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 554.
- DACTYLIS L. / DOMUZAYRIĞI.**
- Dactylis glomerata* L. subsp. *glomerata*; 6, 16.05.2012, Keskin, 842. Avr.-Sibir.
- MELICA L. / İNCİÇİMİ**
- Melica persica* Kunth subsp. *inaequiglumis* (Boiss.) Bornm.; 21, 02.07.2011, Keskin, 420.
- STIPA L. / SORĞUÇOTU**
- Stipa lessingiana* Trin. & Rupr.; 15, 23.05.2011, Keskin, 29.
- PHALARIS L. / KANYAŞ**
- Phalaris arundinacea* L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 900.
- PUCCINELLIA L. / TUZÇİMİ**
- Puccinellia distans* (Jacq.) Parl. subsp. *distans*; 6, 14.06.2011, Keskin, 307.
- BERBERIDACEAE / KARAMUKGİLLER**
- BERBERIS L. / KARAMUK**
- Berberis crataegina* DC; 2, 15.05.2012, Keskin, 691.
- PAPAVERACEAE / HAŞHAŞGİLLER.**
- CORYDALIS** Medik. / KAZGAGASI.
- Corydalis solida* (L.) Swartz subsp. *solida*; 13, 24.05.2011, Keskin, 88.
- C. rutifolia* (Sibth.) DC. subsp. *erdellii* (Zucc.) Cullen & Davis; 15, 23.05.2011, Keskin, 21.
- GLAUCIUM** Adans. / ÇÖMLEKÇATLATAN
- Glaucium corniculatum* (L.) Rud. subsp. *corniculatum*; 3, 14.05.2012, Keskin, 617.
- G. flavum* Crantz; 13, 24.05.2011, Keskin, 87.
- PAPAVER L. / GELİNCİK.**
- Papaver triniifolium* Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 692. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- P. fugax* Poiret var. *fugax*; 6, 16.05.2012, Keskin, 849.
- P. polychaetum* Schott & Kotschy; 2, 15.05.2012, Keskin, 693. Endemik. (LC).
- P. lacerum* Popov.; 15, 23.05.2011, Keskin, 28.
- P. argemone* L.; 12, 14.06.2011, Keskin, 218.
- FUMARIA L. / ŞAHTERE**
- Fumaria parviflora* Lam.; 5, 02.07.2011, Keskin, 309.
- RANUNCULACEAE / DÜĞÜNÇİÇEĞİGİLLER.**
- NIGELLA L. / ÇÖREKOTU**
- Nigella arvensis* L. var. *glauca* Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 679.
- CALTHA L. / LİLPAR**
- Caltha palustris* L.; 10, 22.10.2011, Keskin, 557.
- DELPHINIUM L. / HEZAREN**
- Delphinium peregrinum* L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 680. D. Akd.
- CONSOLIDA (D.C.) S.F. Gray / MAHMUZOTU**

Consolida orientalis (Gay) Schröd.; 3, 14.05.2012, Keskin, 615; 7, 21.06.2012, Keskin, 904.
ANEMONE L. / DAĞLALESİ.
Anemone blanda Schott & Kotschy; 13, 24.05.2011, Keskin, 83.
HELLEBORUS L. / ÇÖPLEME
Helleborus vesicarius Aucher; 3, 14.05.2012, Keskin, 616. D. Akd.
RANUNCULUS L. / DÜĞÜNÇİÇEĞİ.
Ranunculus demissus DC. var. *major* Boiss.; 1, 03.07.2011, Keskin, 424.
R. argyreus Boiss.; 13, 24.05.2011, Keskin, 84.
R. ficaria L. subsp. *ficariiformis* Rouy & Fouc; 13, 24.05.2011, Keskin, 85; 6, 16.05.2012, Keskin, 848.
PLATANACEAE / ÇINARGİLLER
PLATANUS L. / ÇINAR
Platanus orientalis L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 816.
CRASSULACEAE / DAMKORUĞUĞİLLER
ROSULARIA (DC.) Stapf / KAYAKORUĞU.
Rosularia libanotica (Lab.) Muirhead; 19, 02.07.2011, Keskin, 358.
SEDUM L. / DAMKORUĞU.
Sedum amplexicaule DC.; 19, 02.07.2011, Keskin, 359; 11, 03.07.2011, Keskin, 475. Akd.
S. acre L.; 17, 22.06.2012, Keskin, 935.
S. albüm L.; 10, 22.10.2011, Keskin, 566.
S. pallidum Bieb. var. *pallidum*; 4, 13.06.2011, Keskin, 183; 12, 14.06.2011, Keskin, 246.
PAEONIACEAE / AYIGÜLÜĞİLLER
PAEONIA L. / AYIGÜLÜ
Paeonia mascula (L.) Miller. subsp. *mascula*; 13, 24.05.2011, Keskin, 86.
VITACEAE / ASMAGİLLER
VITIS L. / ASMA
Vitis vinifera L.; 19, 02.07.2011, Keskin, 338.
AMPELOPSIS Michaux / BİKİR ASMASI
Ampelopsis orientate (Lam.) Planchon; 20, 02.07.2011, Keskin, 339.
SANTALACEAE / GÜVELEKĞİLLER.
ARCEUTHOBIUM L. / ARDIÇGÜVELEĞİ
Arceuthobium oxycedri (DC.) Bieb.; 16, 15.05.2012, Keskin, 652.
THESIUM L. / TEZGÜVELEK.
Thesium billardieri Boiss.; 21, 02.07.2011, Keskin, 399. Ir.-Tur.
VISCUM L. / ÖKSEOTU.
Viscum albüm L. subsp. *abietis* (Wiesb.) Abromeit; 8, 16.05.2012, Keskin, 773.
AMARANTHACEAE / HOROZİBİĞİĞİLLER.
BETA L. / PANCAR
Beta adanensis Pamuk; 2, 15.05.2012, Keskin, 744. Ir.-Tur. Endemik.
CHENOPODIUM L. / SİRKEN.
Chenopodium botrys L.; 5, 02.07.2011, Keskin, 332.
CARYOPHYLLACEAE / KARANFİLGİLLER.
ARENARIA L. / KUMOTU.
Arenaria kotschyana Fenzl, subsp. *kotschyana*; 16, 15.05.2012, Keskin, 633. Endemik. (LC).
MINUARTIA L. / TİSTİSOTU.
Minuartia juniperina (L.) Maire & Petitm.; 12, 14.06.2011, Keskin, 223.
M. rimarum (Boiss. & Bal.) Mattf. var. *rimarum*; 1, 03.07.2011, Keskin, 445. Ir.-Tur. Endemik.
M. glandulosa (Boiss. & Huet) Bornm.; 5, 02.07.2011, Keskin, 322. D. Akd. (LC).
M. hamata (Hausskn.) Mattf.; 12, 14.06.2011, Keskin, 224; 7, 21.06.2012, Keskin, 912.

STELLARIA L. / KUŞOTU
Stellaria media (L.) Vill subsp. *media*; 15, 23.05.2011, Keskin, 5; 12, 14.06.2011, Keskin, 225.
CERASTIUM L. / BOYNUZOTU.
Cerastium fontanum Baumg.; 13, 24.05.2011, Keskin, 93; 17, 22.06.2012, Keskin, 984.
C. dichotomum L. subsp. *dichotomum*; 13, 24.05.2011, Keskin, 94; 4, 13.06.2011, Keskin, 155.
C. fragillimum Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 14.
TELEPHIUM L. / ZULZULA
Telephium imperati L. subsp. *orientale* (Boiss.) Nyman; 12, 14.06.2011, Keskin, 226.
DIANTHUS L. / KARANFİL.
Dianthus zonatus Fenzl var. *zonatus*; 5, 02.07.2011, Keskin, 324; 1, 03.07.2011, Keskin, 446.
SAPONARIAL. / SABUNOTU.
Saponaria glutinosa Bieb.; 1, 03.07.2011, Keskin, 447.
S. kotschyi Boiss. var. *kotschyi*; 5, 02.07.2011, Keskin, 325; 6, 16.05.2012, Keskin, 857. Endemik. (LC).
GYPSOPHILA L. / ÇÖVEN.
Gypsophila venusta Fenzl; 1, 03.07.2011, Keskin, 448. Ir.-Tur.
G. pilulifera Boiss. & Heldr.; 2, 15.05.2012, Keskin, 722. D. Akd. Endemik.
SILENE L. / NAKIL.
Silene italica (L.) Pers.; 2, 15.05.2012, Keskin, 723.
S. capitellata Boiss.; 13, 24.05.2011, Keskin, 95. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
S. spergulifolia (Desf.) Bieb.; 5, 02.07.2011, Keskin, 327. Ir.-Tur.
S. supina Bieb.; 5, 02.07.2011, Keskin, 328
S. odontopetala Fenzl.; 1, 03.07.2011, Keskin, 449.
S. vulgaris (Moench) Gareke var. *vulgaris*; 4, 13.06.2011, Keskin, 158.
S. caryophylloides (Poirlet) Oth. subsp. *stentoria* (Fenzl) Coode & Cullen; 16, 15.05.2012, Keskin, 634. Ir.-Tur. End. (LC).
S. alba (Miller) Krause subsp. *ericalycina* (Boiss.) Walters; 5, 02.07.2011, Keskin, 329.
S. dichotoma Ehrh. subsp. *dichotoma*; 5, 02.07.2011, Keskin, 330.
S. subconica Friv.; 7, 21.06.2012, Keskin, 913.
HERNIARIA L. / ATYARAN.
Herniaria incana Lam.; 12, 14.06.2011, Keskin, 227.
PARONYCHIA Miller. / ETYARAN.
Paronychia argyroloba Stapf; 1, 03.07.2011, Keskin, 451. Endemik.
P. davisii Chaudhri; 15, 23.05.2011, Keskin, 20. D. Akd. Endemik.
PHYTOLACCACEAE / ŞEKERCİBOYASIGİLLER
PHYTOLACCA L. / ŞEKERCİBOYASI
Phytolacca americana L.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 590.
P. pruinosa Fenzl.; 4, 13.06.2011, Keskin, 164. D. Akd.
PLUMBAGINACEAE / KARDİKENGİLLER.
ACANTHOLIMON Boiss. / KARDİKENİ
Acantholimon acerosum (Willd.) Boiss. subsp. *acerosum* var. *acerosum*; 22, 03.07.2011, Keskin, 542. Ir.-Tur.
A. libanoticum Boiss.; 8, 16.05.2012, Keskin, 771. D. Akd.
POLYGONACEAE / MADİMAKĞİLLER
POLYGONUM L. / MADİMAK
Polygonum cognatum Meissn.; 15, 23.05.2011, Keskin, 59; 12, 14.06.2011, Keskin, 228.
RUMEX L. / LABADA
Rumex acetosella L.; 4, 13.06.2011, Keskin, 161.
R. scutatus L.; 13, 24.05.2011, Keskin, 96.

- R.tuberosus* L., subsp. *tuberosus*; 4, 13.06.2011, Keskin, 162; 7, 21.06.2012, Keskin, 914.
R. cristatus DC; 4, 13.06.2011, Keskin, 163.
PORTULACACEAE / SEMİZOTUGİLLER
PORTULACA L. / SEMİZOTU
Portulaca oleraceae L.; 16, 15.05.2012, Keskin, 632.
EUPHORBIACEAE / SÜTLEĞENGİLLER
EUPHORBIA L. / SÜTLEĞEN
Euphorbia macrocarpa Boiss. & Buhse; 22.10.2011, Keskin, 578. Ir.-Tur.
E. apios L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 775.
E. herniarifolia Willd. subsp. *herniarifolia*; 10, 22.10.2011, Keskin, 579.
E. denticulata Lam.; 15, 23.05.2011, Keskin, 72; 6, 16.05.2012, Keskin, 881. Ir.-Tur.
E. rigida Bieb.; 22, 03.07.2011, Keskin, 546. Akd.
E. kotschyana Fenzl; 8, 16.05.2012, Keskin, 796. D. Akd.
HYPERICACEAE (GUTTIFERAE) / KANTARONGİLLER
HYPERICUM L. / KANTARON
Hypericum hyssopifolium Chaix subsp. *elongatum* (Ledeb.) Woron var. *elongatum*; 1, 03.07.2011, Keskin, 452; 6, 16.05.2012, Keskin, 859. Ir.-Tur.
H. confertum Choisy. subsp. *stenobotrys* (Boiss.) Holmboe; 4, 13.06.2011, Keskin, 165.
H. avicularifolium Jaub. & Spach subsp. *depilatum* (Freyn & Bornm.) Robson var. *depilatum*; 4, 13.06.2011, Keskin, 166. Ir.-Tur. Endemik.
H. perforatum L.; 10, 22.10.2011, Keskin, 564.
SALICACEAE / SÖĞÜTGİLLER
SALIX L. / SÖĞÜT
Salix alba L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 547. Avr.-Sibir.
VIOLACEAE / MENEKŞEGİLLER
VIOLA L. / MENEKŞE
Viola sieheana Becker; 12, 14.06.2011, Keskin, 221.
V. modesta Fenzl.; 15, 23.05.2011, Keskin, 15; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 588.
V. kitaibeliana Roem. & Schult; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 589.
FABACEAE (LEGUMINOSAE) / BAKLAGİLLER
CERCIS L. / ERGUVAN
Cercis siliquastrum L. subsp. *siliquastrum*; 15, 23.05.2011, Keskin, 79.
SOPHORA L. / ACIMEYAN
Sophora alopecuroides L. var. *alopecuroides*; 2, 15.05.2012, Keskin, 670.
GENISTA L. / BORCAK
Genista albida Willd.; 4, 13.06.2011, Keskin, 170.
COLUTEA L. / PATLANGAÇ
Colutea cilicica Boiss. & Bal.; 19, 02.07.2011, Keskin, 341.
ASTRAGALUS L. / GEVEN
Astragalus suberosus Banks & Sol. subsp. *suberosus*; 15, 23.05.2011, Keskin, 35; 6, 16.05.2012, Keskin, 862;
A. densifolius Lam.; 17, 22.06.2012, Keskin, 921. Ir.-Tur.
A. tauricolus Boiss.; 8. Ir.-Tur. Endemik.
A. depressus L.; 1, 03.07.2011, Keskin, 458.
A. acmophyllus Bunge; 4, 13.06.2011, Keskin, 171. Ir.-Tur.
A. macrocephalus Willd. subsp. *finitimus* (Bunge) Chamberlain; 1, 03.07.2011, Keskin, 459. Ir.-Tur.
A. schizopterus Boiss; 6, 16.05.2012, Keskin, 863. D. Akd. Endemik.
A. odoratus Lam.; 12, 14.06.2011, Keskin, 233.
A. lydius Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 61. Ir.-Tur.
A. mesogitanus Boiss.; 1, 03.07.2011, Keskin, 460. Endemik.
A. hirsutus Vahl; 15, 23.05.2011, Keskin, 52.
A. nitens Boiss.& Heldr; 4, 13.06.2011, Keskin, 174. Ir.-Tur.
A. angustifolius Lam. subsp. *angustifolius* var. *angustifolius*; 19, 02.07.2011, Keskin, 234.
A. angustifolius Lam. subsp. *pungens* (Willd.) Hayek; 4, 13.06.2011, Keskin, 176.
VICIA L. / FİĞ
Vicia cracca L. subsp. *stenophylla* Vel.; 19, 02.07.2011, Keskin, 342. (LC).
V. caesarea Boiss. & Bal.; 1, 03.07.2011, Keskin, 461. Ir.-Tur. Endemik.
V. balansae Boiss.; 4, 13.06.2011, Keskin, 177. Oksin
V. aintabensis Boiss. & Hausskn.; 19, 02.07.2011, Keskin, 343; 17, 22.06.2012, Keskin, 923. Ir.-Tur.
V. sativa L. subsp. *nigra* (L.) Ehrh. var. *nigra*; 12, 14.06.2011, Keskin, 235.
V. narbonensis L. var. *narbonensis*; 19, 02.07.2011, Keskin, 344.
LATHYRUS L. / MÜRDÜMÜK
Lathyrus cilicicus Hayek & Siehe; 1, 03.07.2011, Keskin, 462. D. Akd. Endemik. (VU).
L. cicera L.; 1, 03.07.2011, Keskin, 463.
PISUM L. / BEZELYE
Pisum sativum L. subsp. *elatus* (Bieb.) Aschers. & Graebn. var. *elatus*; 19, 02.07.2011, Keskin, 345. Akd.
ONONIS L. / KAYIŞKIRAN
Ononis pusilla L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 671. Akd.
O. spinosa L. subsp. *leiosperma* (Boiss.); 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 591.
TRIFOLIUM L. / YONCA
Trifolium speciosum Willd.; 18, 24.05.2011, 1600 -1800 m, Keskin, 99. D. Akd.
T. pratense L. var. *pratense*; 12, 14.06.2011, Keskin, 237.
T. arvense L. var. *arvense*; 12, 14.06.2011, Keskin, 239.
TRIGONELLA L. / ÇEMENOTU
Trigonella strangulata Boiss.; 10, 03.07.2011, Keskin 464. Ir.-Tur.
T. aurantiaca Boiss.; 19, 02.07.2011, Keskin, 347; 17, 22.06.2012, Keskin, 925. Ir.-Tur.
T. spicata Sibth. & Sm.; 1, 03.07.2011, Keskin, 466. D. Akd.
MEDICAGO L. / KARAYONCA
Medicago radiata L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 680. Ir.-Tur.
M. lupulina L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 725.
M. sativa L. subsp. *sativa*; 19, 02.07.2011, Keskin, 348.
M. xvaria Martin; 2, 15.05.2012, Keskin, 682.
M. rigidula (L.) All. var. *agretis* Burniat; 17, 22.06.2012, Keskin, 998.
DORYCNIUM Miller. / KAPLANOTU
Dorycnium graecum (L.) Ser.; 19, 02.07.2011, Keskin, 349. Oksin. (CD).
D. pentaphyllum Scop. subsp. *anatolicum* (Boiss.) Gams.; 19, 02.07.2011, Keskin, 350.
LOTUS L. / GAZALBOYNUZU
Lotus collinus (Boiss.) Heldr.; 2, 15.05.2012, Keskin, 683. Akd.
L. corniculatus L. var. *corniculatus*; 12, 14.06.2011, Keskin, 242; 19, 02.07.2011, Keskin, 351.
L. corniculatus L. var. *alpinus* Ser.; 19, 02.07.2011, Keskin, 352.
L. aegaeus (Gris.) Boiss.; 16, 15.05.2012, Keskin, 637; 17, 22.06.2012, Keskin, 926. Ir.-Tur.
CORONILLA L. / BURÇAK
Coronilla emerus L. subsp. *emeroides* (Boiss. & Sprun.) Uhrova; 2, 15.05.2012, Keskin, 726.
C. scorpioides (L.) Koch; 19, 02.07.2011, Keskin, 353.
C. parviflora Willd.; 2, 15.05.2012, Keskin, 727. D. Akd.
C. grandiflora Boiss.; 8, 16.05.2012, Keskin, 779. D. Akd. Endemik. (LC).
C. varia L. subsp. *varia*; 4, 13.06.2011, Keskin, 178.

ONOBRYCHIS Adans. / KORUNGA.

Onobrychis cornuta (L.) Desv.; 4, 13.06.2011, Keskin, 179; 17, 22.06.2012, Keskin, 928. Ir.-Tur.

O. armena Boiss. & Huet; 2, 15.05.2012, Keskin, 728; 17, 22.06.2012, Keskin, 929. Endemik.

O. argyrea Boiss. subsp. *argyrea*; 8, 16.05.2012, Keskin, 780. Ir.-Tur. Endemik.

EBENUS L. / MORGEVEN

Ebenus laguroides Boiss. var. *cilicica* (Boiss.) Bornm.; 2, 15.05.2012, Keskin, 729. Ir.-Tur. Endemik. (CD).

POLYGALACEAE / SÜTOTUGİLLER.**POLYGALA** L. / SÜTOTU.

Polygala supina Schreb.; 16, 15.05.2012, Keskin, 631.

P. pruinosa Boiss. subsp. *pruinosa*; 1, 03.07.2011, Keskin, 444.

RHAMNACEAE / CEHRİGİLLER.**PALIURUS** Miller. / KARAÇALI.

Paliurus spina-christi Miller; 19, 02.07.2011, Keskin, 340; 7, 21.06.2012, Keskin, 919.

ZIZIPHUS Miller / HÜNNAP.

Ziziphus jujuba Mill.; 2, 15.05.2012, Keskin, 668.

RHAMNUS L. / CEHRİ.

Rhamnus libanoticus Boiss.; 18, 24.05.2011, Keskin, 98. D. Akd.

ROSACEAE / GÜLGİLLER.**PRUNUS** L. / ERİK

Prunus spinosa L.; 16, 15.05.2012, Keskin, 638. Avrupa-Sibirya

P. divaricata Ledeb. subsp. *divaricata*; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 592.

CERASUS Mill. Gard. Dict. Abr. / KİRAZ.

Cerasus prostrata (Lab.) Ser. var. *prostrata*; 16, 15.05.2012, Keskin, 639.

C. avium (L.) Moench.; 8, 16.05.2012, Keskin, 781.

C. vulgaris Miller; 8, 16.05.2012, Keskin, 782.

AMYGDALUS L. / BADEM.

Amygdalus communis L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 731.

RUBUS L. / BÖĞÜRTLEN.

Rubus sanctus Schreber; 8, 16.05.2012, Keskin, 783.

R. discolor Weihe & Ness; 19, 02.07.2011, Keskin, 355.

POTENTILLA L. / BEŞPARMAKOTU.

Potentilla bifurca L.; 19, 02.07.2011, Keskin, 356.

P. recta L.; 19, 02.07.2011, Keskin, 357.

P. kotschyana Fenzl; 15, 23.05.2011, Keskin, 19; 4, 13.06.2011, Keskin, 180. Doğu Akd.

P. reptans L.; 12, 14.06.2011, Keskin, 243.

P. speciosa Willd. var. *speciosa*; 1, 03.07.2011, Keskin, 470.

GEUM L. / MERYEMOTU

Geum urbanum L.; 11, 03.07.2011, Keskin, 471; 17, 22.06.2012, Keskin, 932. Avr.-Sibir.

SANGUISORBA L. / ÇAYIRDÜĞMESİ.

Sanguisorba minör Scop. subsp. *muricata* (Spach) Briq.; 17, 22.06.2012, Keskin, 7.

ALCHEMILLA L. / ASLANPENÇESİ.

Alchemilla compactilis Juz.; 2, 15.05.2012, Keskin, 732.

A. pseudocartalinica Juz.; 8, 16.05.2012, Keskin, 784.

A. holocycla Rothm.; 6, 16.05.2012, Keskin, 833. Ir.-Tur. Endemik.

A. retinervis Buser; 17, 22.06.2012, Keskin, 933. Oksin.

A. ellenbergiana Rothm.; 6, 16.05.2012, Keskin, 845. Oksin.

ROSA L. / GÜL.

Rosa canina L.; 12, 14.06.2011, Keskin, 245.

R. pulverulenta Bieb.; 11, 03.07.2011, Keskin, 472.

COTONEASTER Medik. / DAĞMUŞMULASI.

Cotoneaster nummularia Fisch. & C.A. Mey.; 6, 16.05.2012, Keskin, 867. D. Akd.

CRATAEGUS L. / ALIÇ.

Crataegus orientalis Pallans ex M. Bieb. var. *orientalis*; 8, 16.05.2012, Keskin, 785.

C. meyeri Pojark.; 2, 15.05.2012, Keskin, 734. Ir.-Tur.

C. monogyna Jacq. subsp. *monogyna*; 8, 16.05.2012, Keskin, 786; 17, 22.06.2012, Keskin, 934.

SORBUS L. / ÜVEZ.

Sorbus umbellata (Desf.) Fritsch. var. *umbellata*; 11, 03.07.2011, Keskin, 473.

PYRUS L. / ARMUT.

Pyrus communis L. subsp. *communis*; 2, 15.05.2012, Keskin, 735.

MORACEAE / DUTGİLLER.**MORUS** L. / DUT.

Morus alba L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 13.

M. nigra L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 837.

FICUS L. / İNCİR.

Ficus carica L. subsp. *carica* (All.) Schinz et Thell.; 6, 16.05.2012, Keskin, 814.

URTICACEAE / ISIRGANĞİLLER.**URTICA** L. / ISIRGAN.

Urtica dioica L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 797. Avr.-Sibir.

CUCURBITACEAE / KABAKĞİLLER.**BRYONIA** L. / BİNKULAÇ.

Bryonia multiflora Boiss. & Heldr.; 11, 03.07.2011, Keskin, 474. Ir.-Tur.

BETULACEAE / HUŞĞİLLER**CARPINUS** L. / GÜRGEN.

Carpinus orientalis Miller; 1, 03.07.2011, Keskin, 423.

FAGACEAE / KAYINGİLLER.**QUERCUS** L. / MEŞE.

Quercus infectoria Olivier. subsp. *boissieri* (Reuther.) O.Schwarz.; 6, 16.05.2012, Keskin, 817.

JUGLANDACEAE / CEVİZĞİLLER.**JUGLANS** L. / CEVİZ.

Juglans regia L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 815.

GERANIACEAE / TUNAGAGASIGİLLER.**GERANIUM** L. / TURNAGAGASI.

Geranium lucidum L.; 4, 13.06.2011, Keskin, 167.

G. purpureum Vill.; 16, 15.05.2012, Keskin, 635.

G. columbinum L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 916.

G. tuberosum L. subsp. *tuberosum*; 18, 24.05.2011, Keskin, 97; 16, 15.05.2012, Keskin, 636.

G. pyrenaicum Burm. fil.; 19, 02.07.2011, Keskin, 337.

ERODIUM L'Herit. / DÖNBABA.

Erodium absinthoides Willd. subsp. *absinthoides*; 15, 23.05.2011, Keskin, 31. Ir.-Tur. Endemik.

E. cicutarium (L.) L' Herit. subsp. *cutarium* L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 917.

LYTHRACEAE / AKLAROTUGİLLER.**PUNICA** L. / NAR.

Punica granatum L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 787.

ONAGARACEAE / YAKIOTUGİLLER.**EPILOBIUM** L. / YAKIOTU.

Epilobium hirsutum L.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 593.

BRASSICACEAE (CRUCIFERAE) / TURPGİLLER.**CONRINGIA** L. / TELKARİOTU.

Conringia planisiliqua Fisch. & Mey.; 3, 14.05.2012, Keskin, 618. Ir.-Tur.

LEPIDIUM L. / TERE.

Lepidium draba L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 850.

L. chalapense L.; 1, 03.07.2011, Keskin, 426.

ISATIS L. / ÇİVİTOTU.

Isatis frigida Boiss. & Kotschy (Boiss.); 4, 13.06.2011, Keskin, 145. Endemik. (VU).

I. tinctoria L. subsp. *tomentella* (Boiss.) Davis; 5, 02.07.2011, Keskin, 311.

IBERIS L. / HÜNKARBEĞENDİÖTU.

Iberis carnosa Willd.; 15, 23.05.2011, Keskin, 46. D. Akd.

I. sempervirens L.; 4, 13.06.2011, Keskin, 146. Akd.

AETHIONEMA R. Br. / KAYAGÜLÜ.

Aethionema stylosum DC.; 13, 24.05.2011, Keskin, 89.

A. speciosum Boiss. & Huet in Boiss.; 16.05.2012, Keskin, 851. Ir.-Tur.

A. iberideum (Boiss.) Boiss.; 13, 24.05.2011, Keskin, 90.

A. schistosum Boiss. & Kotschy; 15, 23.05.2011, Keskin, 37; 7, 21.06.2012, Keskin, 907. Endemik.

A. capitatum Boiss. & Bal.; 4, 13.06.2011, Keskin, 148; 3, 14.05.2012, Keskin, 619. Endemik.

A. armenum Boiss.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 584. Ir.-Tur.

THLASPI L. / ÇOBANDAĞARCIĞI.

Thlaspi arvense L.; 3, 14.05.2012, Keskin, 620.

T. rosulare Boiss. & Bal.; 3, 14.05.2012, Keskin, 621. Endemik. (CR)

MICROTHLASPI F. K. Mey. / GİYLE.

Microthlaspi perfoliatum (L.) F. K. Mey. / Giyle.; 5, 02.07.2011, Keskin, 312.

NOCCAEEAE Moench. / KUŞBAŞIÖTU.

Noccaee violascens (Rech.f.) F.K.Mey.; 2, 15.05.2012, Keskin, 694. Endemik.

CAPELLEA Medik. / ÇOBANÇANTASI.

Capsella bursa-pastoris (L.) Medik.; 1, 03.07.2011, Keskin, 428; 10, 22.10.2011, Keskin, 558.

PSEUDOSEMPERVIVUM (Boiss.) / KAŞIKÖTU.

Pseudosempervivum sempervivum (Boiss. & Bal) Pobed.; 10, 22.10.2011, Keskin, 559. Endemik.

NESLIA Desv. / TOPHARDAL.

Neslia paniculata (L.) subsp. *thracica* (Velen.) Bornm.; 1, 03.07.2011, Keskin, 430.

RICOTIA L. / CAVLAKÖTU.

Ricotia aucheri (Boiss.) B. L. Burttt; 8, 16.05.2012, Keskin, 776; 15, 23.05.2011, Keskin, 43. Ir.-Tur. (LC).

FIBIGIA Medik. / SİKKEÖTU.

Fibigia clypeata (L.) Medik.; 5, 02.07.2011, Keskin, 313.

F. eriocarpa (DC.) Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 36.

BORNMUELLERA Rothm. / SADIRLI DAVUNÖTU.

Bornmuellera glabrescens (Boiss. & Bal.) Cullen & Dudley; 2, 15.05.2012, 2010 m, A.Keskin, 696. Ir.-Tur. Endemik

ALYSSUM L. / KUDUZÖTU.

Alyssum minus (L.) Rothm. var. *minus*; 15, 23.05.2011, Keskin, 45; 13, 24.05.2011, Keskin, 91.

A. minus (L.) Rothm. var. *micranthum*; 15, 23.05.2011, Keskin, 13.

A. hirsutum Bieb.; 7, 21.06.2012, Keskin, 908.

A. masmenaeum Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 12; 17, 22.06.2012, Keskin, 972. Endemik. (LC).

A. oxycarpum Boiss. & Bal.; 2, 15.05.2012, Keskin, 697. Endemik. (CD).

A. murale Waldst. & Kit. var. *murale*; 1, 03.07.2011, Keskin, 431; 17, 22.06.2012, Keskin, 973.

A. peltarioides Boiss. subsp. *virgatiforme* (Nyar.) Dudley; 15, 23.05.2011, Keskin, 6. Ir.-Tur.

CLYPEOLA L. / AKÇEÖTU.

Clypeola jonthlaspi L.; 15, 23.05.2011, Keskin, 53.

DRABA L. / KAYADOLMASI.

Draba bruniifolia Stev. subsp. *heterocoma* (Fenzl) Coode & Cullen var. *heterocoma*; 10, 22.10.2011, Keskin, 560.

ARABIS L. / KAZTERESİ.

Arabis alpina L. subsp. *brevifolia* (DC.) Cullen; 16, 15.05.2012, Keskin, 624. D. Akd.

A. nova Vill.; 15, 23.05.2011, Keskin, 44.

A. verna (L.) DC.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 586. Akd.

TURRITIS L. / SIRIKTERE.

Turritis glabra L.; 17, 22.06.2012, Keskin, 975.

T. laxa (Sibth. & Sm.) Hayek; 2, 15.05.2012, Keskin, 718; 7, 21.06.2012, Keskin, 909.

RORIPPA L. / ÇAKANDURA.

Rorippa aurea (Boiss. & Heidr.) Hub.-Mor.; 17, 22.06.2012, Keskin, 976. Endemik. (NT).

BARBAREA R.Br. / NİCARÖTU.

Barbarea vulgaris R.Br.; 15, 23.05.2011, Keskin, 26.

B. plantaginea DC.; 4, 13.06.2011, Keskin, 151.

B. branchycampa Boiss. subsp. *minör* var. *minör* Busch; 7, 21.06.2012, Keskin, 719; 13, 24.05.2011, Keskin, 92.

CARDAMINE L. / ACİTERE.

Cardamine hirsuta L. Bieb.; 16, 15.05.2012, Keskin, 629.

AUBRETIA Adans. / OBRİZYA.

Aubretia canescens (Boiss.) Bornm. subsp. *cilicica* (Boiss.) Cullen; 15, 23.05.2011, Keskin, 70; 5, 02.07.2011, Keskin, 314. Endemik.

HESPERIS L. / AKŞAMYILDIZI.

Hesperis kotschyi Boiss.; 1, 03.07.2011, Keskin, 436. Ir.-Tur. Endemik. (LC).

H. bicuspidata (Willd.) Poir.; 1, 03.07.2011, Keskin, 437. Ir.-Tur. Endemik.

H. anatolica A. Duran; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 586. D. Akd. Endemik.

H. pendula DC. subsp. *campicarpa* (Boiss.) Dvorak; 10, 22.10.2011, Keskin, 561. D.Akd. Endemik.

ERYSIMUM L. / ZARİFEÖTU.

Erysimum cuspidatum (Bieb.) DC.; 5, 02.07.2011, Keskin, 315; 5, 02.07.2011, Keskin, 316.

E. thyrsoideum Boiss. subsp. *thyrsoideum*; 15, 23.05.2011, Keskin, 39. Endemik.

ALLIARIA Scop. / SARMISAKHARDALI.

Alliaria petiolata (Bieb.) Cavara. & Grande; 5, 02.07.2011, Keskin, 317.

SOBOLEVSKIA Bieb. / AKYELOTU.

Sobolevskia clavata (Boiss.) Fenzl.; 7, 21.06.2012, Keskin 910. Ir.-Tur.

CAMELINA Crantz. / KETENTERE.

Camelina rumelica Vel.; 5, 02.07.2011, Keskin, 318.

RESEDACEAE / GERDANLIK GİLLER.**RESEDA L. / GERDANLIK.**

Reseda armena Boiss. var. *armena*; 12, 14.06.2011, Keskin, 220. Ir.-Tur. Endemik. (CD).

R. lutea L. var. *lutea*; 2, 15.05.2012, Keskin, 720.

CISTACEAE / LADENGİLLER.**HELIANTHEMUM Adans. / GÜNGÜLÜ.**

Helianthemum nummularium (L.) Miller subsp. *nummularium*; 1, 03.07.2011, Keskin, 441.

H. ledifolium (L.) Miller var. *ledifolium*; 5, 02.07.2011, Keskin, 319.

CISTUS L. / LADEN.

Cistus creticus L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 911.

C. parviflorus Lam.; 8, 16.05.2012, Keskin, 778. D. Akd.

C. salviifolius L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 799.

C. laurifolius L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 832. Akd.

MALVACEAE / EBEGÜMECİ GİLLER.**MALVA L. / EBEGÜMECİ**

Malva sylvestris L.; 7, 21.06.2012, Keskin, 915.

M. neglecta Wallr.; 5, 02.07.2011, Keskin, 334.

ALCEA L. / HATMİ.

Alcea calvertii (Boiss.) Boiss.; 5, 02.07.2011, Keskin, 335. Ir.-Tur. Endemik.

A. biennis Winterl.; 12, 14.06.2011, Keskin, 231.

ANACARDIACEAE / MENENGİÇ GİLLER.**PISTACIA L. / MENENGİÇ.**

- Pistacia terebinthus* L. subsp. *palaestina* (Boiss.) Engler; 7, 21.06.2012, Keskin, 920. D. Akd.
- SAPINDACEAE / AKÇAAĞAÇGİLLER.**
- ACER** L. / AKÇAAĞAÇ.
- Acer monspessulanum* L. subsp. *microphyllum* (Boiss.) Bornm.; 7, 21.06.2012, Keskin, 918.
- PRIMULACEAE / ÇUHAÇIÇEĞİGİLLER.**
- LYSIMACHIA** L. / FAREKULAĞI.
- Lysimachia vulgaris* L.; 9, 02.07.2011, Keskin, 385.
- Lysimachia savranii* Başköse & Keskin sp. nov.; 24, 18.06.2014, Keskin, 1071. Endemik.
- PRIMULA** L. / ÇUHAÇIÇEĞİ
- Primula vulgaris* Huds. subsp. *vulgaris*; 11, 03.07.2011, Keskin, 504. Avr.-Sibir.
- CYCLAMEN** L. / YERSOMUNU.
- Cyclamen cilicium* Boiss. & Heldr. var. *cilicium*; 23, 10.04.2012, Keskin, 602. Endemik. (NT).
- C. coum* Miller var. *coum*; 23, 10.04.2012, Keskin, 603.
- ANAGALLIS** L. / FAREKULAĞI.
- Anagallis arvensis* L. var. *caerulea* (L.) Gouan.; 10, 22.10.2011, Keskin, 574.
- BORAGINACEAE / HODANGİLLER.**
- MYOSOTIS** L. / UNUTMABENİ.
- Myosotis sylvatica* Ehrh. ex Hoffm. subsp. *rivularis* Vestergren; 4, 13.06.2011, Keskin, 207. Hirkan-Öksin
- M. alpestris* F.W. Schmidt subsp. *alpestris*; 22, 03.07.2011, Keskin, 506.
- M. lithospermifolia* (Willd.) Hornem.; 15, 23.05.2011, Keskin, 49; 22, 03.07.2011, Keskin, 507.
- M. sicula* Guss.; 18, 24.05.2011, Keskin, 112.
- PARACARYUM** (DC.) Boiss. / ÇARŞAKOTU.
- Paracaryum strictum* (C.Koch) Boiss.; 15, 23.05.2011, Keskin, 991. Ir.-Tur.
- CYNOGLOSSUM** L. / PİSİKTETİĞİ.
- Cynoglossum montanum* L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 280; 16, 15.05.2012, Keskin, 647. Avr.-Sibir.
- BUGLOSSOIDES** Moench. / TARLATAŞKESENİ.
- Buglossoides arvensis* (L.) Johnston; 22, 03.07.2011, Keskin, 509.
- ONOSMA** L. / EMZİKOTU.
- Onosma albo-roseum* Fisch. & Mey. subsp. *sanguinolenta* Bornm.; 15, 23.05.2011, Keskin, 74; 6, 16.05.2012, Keskin, 876. Ir.-Tur. Endemik.
- O. aucheranum* DC.; 6, 14.06.2011, Keskin, 282. D. Akd.
- CERINTHE** L. / ALACAKIZ.
- Cerintho minör* L. subsp. *auriculata* (Ten.) Domac; 4, 13.06.2011, Keskin, 210.
- SYMPHYTUM** L. / KARAKAFESOTU.
- Symphytum brachycalyx* Boiss.; 4, 13.06.2011, Keskin, 211. D. Akd.
- ANCHUSA** L. / SİĞİRDİLİ.
- Anchusa leptophylla* Roemer & Schultes subsp. *incana* (Ledeb.) Chamb.; 17, 22.06.2012, Keskin, 957. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- A. undulata* L. subsp. *hybrida* (Ten.) Coutinho; 15, 23.05.2011, Keskin, 50; 6, 14.06.2011, Keskin, 283. Akd.
- A. officinalis* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 514. Avr.-Sibir.
- NONEA** Medicus / SORMUKOTU.
- Nonea melanocarpa* Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 699. Ir.-Tur.
- ALKANNA** Tausch / HAVACIVAOTU.
- Alkanna orientalis* (L.) Boiss. var. *orientalis*; 22, 03.07.2011, Keskin, 515. Ir.-Tur.
- A. tinctoria* (L.) Tausch subsp. *tinctoria*; 6, 16.05.2012, Keskin, 877. Akd.
- APOCYNACEAE / ZAKKUMGİLLER.**
- VINCA** L. / MAVİYILDIZ.
- Vinca herbacea* Waldst. & Kit.; 16, 15.05.2012, Keskin, 645.
- CYNANCHUM** L. / BACIRGAN.
- Cynanchum acutum* L. subsp. *acutum*; 9, 02.07.2011, Keskin, 386; 15, 23.05.2011, Keskin, 992.
- RUBIACEAE / KÖKBOYAGİLLER.**
- ASPERULA** L. / BELUMOTU.
- Asperula glomerata* (Bieb.) Griseb. subsp. *glomerata*; 22, 03.07.2011, Keskin, 548.
- A. lilaciflora* Boiss. subsp. *mutensis* Schönb.-Tem.; 6, 16.05.2012, Keskin, 818. D. Akd. Endemik. (VU).
- A. arvensis* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 549. Akd.
- GALIMUM** L. / YAPIŞKANOTU.
- Galium verum* L. subsp. *verum*; 6, 14.06.2011, Keskin, 295; 2, 15.05.2012, Keskin, 731. Avr.-Sibir.
- G. verum* L. subsp. *glabrescens* Ehrend.; 6, 16.05.2012, Keskin, 882. Ir.-Tur.
- G. subuliferum* Somm. & Lev.; 6, 14.06.2011, Keskin, 298.
- G. dieckii* Bornm.; 6, 16.05.2012, Keskin, 883. Endemik. (CD).
- G. incanum* Sm. subsp. *pseudocornigerum* Ehrend.; 21, 02.07.2011, Keskin, 400. Ir.-Tur. Endemik.
- G. cilicium* Boiss.; 23, 10.04.2012, Keskin, 605. D. Akd. Endemik. (LC).
- CRUCIATA** Miller / SARILIKOTU.
- Cruciata taurica* (Pallas ex Willd.) Ehrend.; 18, 24.05.2011, Keskin, 121. Ir.-Tur. Elm
- C. pedemontana* (Bellardi) Ehrend.; 6, 14.06.2011, Keskin, 299.
- ACANTHACEAE / AYİPENÇESİGİLLER.**
- ACANTHUS** L. / AYİPENÇESİ.
- Acanthus hirsutus* Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 709; 16, 15.05.2012, Keskin, 650. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- LAMIACEAE (LABIATAE) / BALLIBABAGİLLER.**
- ORIGANUM** L. / MERCANKÖŞK.
- Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link); 22, 03.07.2011, Keskin, 522. D. Akd.
- AJUGA** L. / MAYASILOTU.
- Ajuga orientalis* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 523.
- A. chamaepitys* (L.) Schreber. subsp. *chia* (Schreber.) Arcangeli var. *chia*; 15, 23.05.2011, Keskin, 41.
- TEUCRIUM** L. / MAYASILOTU.
- Teucrium orientale* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 525; 2, 15.05.2012, Keskin, 710. Ir.-Tur.
- T. montanum* L.; 22, 03.07.2011, Keskin, 526.
- T. polium* L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 290. Akd.
- SCUTELLARIA** L. / KASİDE
- Scutellaria velenovskyi* Rech. fil.; 22, 03.07.2011, Keskin, 527. D. Akd.
- S. salviifolia* Benth.; 2, 15.05.2012, Keskin, 711; 22, 03.07.2011, Keskin, 528. Endemik.
- S. orientalis* L. subsp. *pinnatifida* Edmondson; 8, 16.05.2012, Keskin, 759.
- S. orientalis* L. subsp. *santolinoides* (Hausskn. Ex Bornm.) Edmondson; 15, 23.05.2011, Keskin, 81; 8, 16.05.2012, Keskin, 760. Ir.-Tur. Endemik.
- LAMIUM** L. / BALLIBABA
- Lamium garganicum* L. subsp. *reniforme* (Montbret. & Aucher ex Benth.) R.; 22, 03.07.2011, Keskin, 529.
- L. macrodon* Boiss. & Huet; 17, 22.06.2012, Keskin, 965. Ir.-Tur.
- BALLOTA** L. / NEMNEMOTU.
- Ballota saxatilis* Sieber ex J. & C. Presl, subsp. *saxatilis*; 22, 03.07.2011, Keskin, 531. D. Akd.
- B. macrodonta* Boiss. & Bal.; 8, 16.05.2012, Keskin, 761. Ir.-Tur. Endemik. (VU).
- MARRUBIUM** L. / MAYASILOTU.

Marrubium astracanicum Jacq. subsp. *astracanicum*; 10, 22.10.2011, Keskin, 576.
SIDERITIS L. / DAĞÇAYI
Sideritis lanata L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 763; 17, 22.06.2012, Keskin, 996. D. Akd.
S. montana L. subsp. *remota* (d'Urv.) P.W. Ball ex Heywood; 8, 16.05.2012, Keskin, 764. D. Akd.
S. congesta P.H. Davis & Hub.-Mor.; 8, 16.05.2012, Keskin, 792. D. Akd. Endemik. (NT).
S. bilgerana P.H. Davis; 8, 16.05.2012, Keskin, 793. D. Akd. Endemik. (VU).
STACHYS L. / DELİÇAYI.
S. cretica L. subsp. *anatolica* Rech.; 2, 15.05.2012, Keskin, 715. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
S. rupestris Montbret & Aucher ex Benth; 22, 03.07.2011, Keskin, 532. D. Akd. Endemik. (LC).
S. lavandulifolia Vahl. var. *lavandulifolia*; 2, 15.05.2012, Keskin, 716. Ir.-Tur.
NEPETA L. / KEDİNANESİ.
Nepeta nuda L. subsp. *albiflora* (Boiss.) Gams; 9, 02.07.2011, Keskin, 391.
N. isaurica Boiss. & Heldr.; 6, 14.06.2011, Keskin, 291; D. Akd. Endemik. (LC).
N. betonicifolia C.A. Meyer; 15, 23.05.2011, Keskin, 40; 8, 16.05.2012, Keskin, 765. Ir.-Tur.
LALLEMANTIA L. / AJDARBAŞI.
Lallemantia peltata (L.) Fisch. & Mey.; 9, 02.07.2011, Keskin, 392. Ir.-Tur.
CLINOPODIUM L. / YABANİFESLEĞEN.
Clinopodium vulgare L. subsp. *vulgare*; 9, 02.07.2011, Keskin, 393. Avr.-Sibir.
C. betulifolium (Boiss. & Balanse) Kuntze; 8, 16.05.2012, Keskin, 766.
CYCLOTRICHUM L. / DAĞNANESİ.
Cyclotrichium origophyllum (Labill.) Manden. & Scheng.; 23, 10.04.2012, Keskin, 604. D. Akd.
THYMUS L. / KEKİK.
Thymus sipyleus Boiss. subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*; 22, 03.07.2011, Keskin, 535. Endemik. (LC).
T. roegneri K.Koch, Linnaea; 22, 03.07.2011, Keskin, 536. Ir.-Tur. Endemik.
THYMBRA L. / ZAHTER.
Thymbra spicata L. var. *spicata*; 22, 03.07.2011, Keskin, 537.
MENTHA L. / NANE.
Mentha aquatica L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 119.
ZIZIPHORA L. / ANUK.
Ziziphora capitata L.; 9, 02.07.2011, Keskin, 394; 9, 02.07.2011, Keskin, 395. Ir.-Tur.
SALVIA L. / ADAÇAYI.
Salvia aucheri Benth. subsp. *aucheri*; 8, 16.05.2012, Keskin, 767. Endemik. (VU).
S. cadmica Boiss.; 22, 03.07.2011, Keskin, 538; 17, 22.06.2012, Keskin, 968. Endemik. (LC).
S. multicaulis Vahl; 22, 03.07.2011, Keskin, 539. Ir.-Tur.
S. absconditiflora (Montbret & Aucher ex Benth.) Greuter & Burdet; 10, 22.10.2011, Keskin, 577. Ir.-Tur. Endemik.
S. montbretii Benth; 6, 14.06.2011, Keskin, 294; 17, 22.06.2012, Keskin, 969. Ir.-Tur.
S. brachyantha (Bordz.) Pobed.; 8, 16.05.2012, Keskin, 768. Ir.-Tur.
S. frigida Boiss.; 22, 03.07.2011, Keskin, 540. Ir.-Tur.
S. virgata Jacq.; 9, 02.07.2011, Keskin, 397. Ir.-Tur.
S. verticillata L. subsp. *verticillata* Bornm.; 22, 03.07.2011, Keskin, 541. Avr.-Sibir.
S. verticillata L. subsp. *amasiaca* (Frey & Bornm.) Bornm.; 17, 22.06.2012, Keskin, 970. Ir.-Tur.

OLEACEAE / ZEYTINGİLLER.**JASMINUM L. / YASEMİN**

Jasminum fruticans L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 755. Akd.

FRAXINUS L. / DIŞBUDAK.

Fraxinus ornus L. subsp. *cilicica* (Lingelsh.) Yalt.; 6, 16.05.2012, Keskin, 809. D. Akd. Endemik. (LC).

OLEA L. / ZEYTİN

Olea europaea L. var. *sylvestris* (Miller) Lehr.; 2, 15.05.2012, Keskin, 702. Akd.

OROBANCHACEAE / CANAVAROTUGİLLER.**OROBANCHE L. / CANAVAROTU**

Orobancha alba Stephan; 9, 02.07.2011, Keskin, 389.

O. pubescens d'Urv; 2, 15.05.2012, Keskin, 708. Akd.

PLANTAGINACEAE / SİNİROTUGİLLER.**GLOBULARIA L. / KÜRE ÇİÇEĞİ**

Globularia trichosantha Fisch. & Mey.; 22, 03.07.2011, Keskin, 521.

LINARIA Miller. / NEVRUZOTU.

Linaria genistifolia (L.) Miller subsp. *praealta* (Boiss.) Davis; 17, 22.06.2012, Keskin, 960. Endemik. (NT).

L. genistifolia (L.) Miller subsp. *confertiflora* (Boiss.) Davis; 9, 02.07.2011, Keskin, 388. Avr.-Sibir. Endemik.

PLANTAGO L. / SİNİROTU.

Plantago major L. subsp. *intermedia* (Gilib); 22, 03.07.2011, Keskin, 543.

P. lanceolata L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 120.

VERONICA L. / MAVİŞOT.

Veronica hederifolia L.; 16, 15.05.2012, Keskin, 649.

V. anagalis-aquatica L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 115.

V. macrostochya subsp. *macrostochya* Vahl; 6, 14.06.2011, Keskin, 288.

V. cuneifolia D. Don. subsp. *cuneifolia*; 2, 15.05.2012, Keskin, 687. Endemik. (LC).

V. surculosa Boiss. & Bal.; 22, 03.07.2011, Keskin, 519. D. Akd. Endemik. (DD).

V. multifida L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 289. Ir.-Tur. (LC).

SCROPHULARIACEAE / SİRACAOTUGİLLER.**SCROPHULARIA L. / SİRACAOTU**

Scrophularia pulverulenta Boiss.; 8, 16.05.2012, Keskin, 758. Ir.-Tur. Endemik

S. xanthoglossa Boiss. var. *decipiens* (Boiss. & Kotschy) Boiss.; 17, 22.06.2012, Keskin, 959. Ir.-Tur.

S. scopolii (Hoppe ex) Pers var. *scopolii*; 22, 03.07.2011, Keskin, 517.

VERBASCUM L. / SIĞIRKUYRUĞU.

Verbascum orientale (L.) All.; 17, 22.06.2012, Keskin, 958. D. Akd.

V. cilicicum (Boiss. & Heldr.) O. Kuntze; 6, 14.06.2011, Keskin, 287. D. Akd. Endemik. (VU).

V. urceolatum Hub.-Mor.; 2, 15.05.2012, Keskin, 674. D. Akd. Endemik.

V. splendidum Boiss.; 22, 03.07.2011, Keskin, 516. D. Akd. Endemik. (LC).

V. glomerulosum Hub.-Mor.; 2, 15.05.2012, Keskin, 675. D. Akd. Endemik. (NT).

V. cheiranthifolium Boiss. var. *pisidicum* (Boiss. & Heldr.) Murb.; 2, 15.05.2012, Keskin, 676. Endemik.

EUPHRASIA L. / GÖZOTU.

Euphrasia pectinata Ten.; 2, 15.05.2012, Keskin, 690. Avr.-Sibir.

PEDICULARIS L. / KESGEROTU.

Pedicularis cadmea Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 705. D. Akd. Endemik.

P. comosa L. var. *sibthorpii* (Boiss.) Boiss.; 6, 16.05.2012, Keskin, 811.

RHINANTHUS L. / HORUZOTU.

- Rhnanthus angustifolius* C.C. Gmelin; 6, 16.05.2012, Keskin, 812; 2, 15.05.2012, Keskin, 707.
- CONVOLVULACEAE/ TARLASARMAŞIĞIĞILLER.**
- CONVOLVULUS L. / TARLASARMAŞIĞI.**
- Convolvulus arvensis* L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 875.
- C. betonicifolius* Miller subsp. *betonicifolius*; 16, 15.05.2012, Keskin, 646.
- C. compactus* Boiss.; 8, 16.05.2012, Keskin, 757; 17, 22.06.2012, Keskin, 955. Ir.-Tur.
- C. holosericeus* Bieb. subsp. *holosericeus*; 6, 16.05.2012, Keskin, 810.
- C. scammonia* L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 835. D. Akd.
- C. stachydifolius* Choisy; 2, 15.05.2012, Keskin, 700. Ir.-Tur.
- CUSCUTA L. / CİNSAÇI.**
- Cuscuta palaestina* Boiss. subsp. *balansae* (Yuncker) Plitm.; 10, 22.10.2011, Keskin, 575.
- SOLANACEAE / PATLICANGİLLER.**
- PHYSALIS L. / GÜVEYFENERİ.**
- Physalis alkekengi* L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 285.
- ATROPA L. / GÜZELAVRATOTU.**
- Atropa belladonna* L.; 6, 14.06.2011, Keskin, 286; 17, 22.06.2012, Keskin, 993. Avr.-Sibir.
- HYOSCYAMUS L. / BANOTU.**
- Hyoscyamus niger* L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 672.
- THYMALACEAE / SIYİRCİKGİLLER.**
- DAPHNE L. / SIYİRCİK.**
- Daphne oleoides* Schreber subsp. *oleoides*; 8, 16.05.2012, Keskin, 772.
- APIACEAE (UMBELLIFERAE) / MAYDONOZGİLLER.**
- SCANDIX L. / KİŞKİŞ.**
- Scandix stellata* Banks. & Sol.; 12, 14.06.2011, Keskin, 247; 11, 03.07.2011, Keskin, 478.
- S. aucheri* Boiss.; 17, 22.06.2012, Keskin, 936. Ir.-Tur.
- S. iberica* Bieb.; 15, 23.05.2011, Keskin, 27.
- SMYRNIUM L. / YABANİKEREVİZ.**
- Smyrniium connatum* Boiss. & Kotschy; 18, 24.05.2011, Keskin, 100. D. Akd.
- BUNIUM L. / AKLEMA.**
- Bunium microcarpum* (Boiss.) Freyn. subsp. *microcarpum*; 18, 24.05.2011, Keskin, 101. D. Akd.
- PRANGOS Lindl. / AKLEMA.**
- Prangos uechtritzi* Boiss. & Hausskn.; 19, 02.07.2011, Keskin, 361. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- FALCARIA Fabr. / ORAKOTU.**
- Falcaria vulgaris* Bernh.; 19, 02.07.2011, Keskin, 362.
- F. falcarioides* (Bornm. & Wolff) Wolff; 17, 22.06.2012, Keskin, 936.
- ANGELICA L. / MELEKOTU.**
- Angelica sylvestris* L. var. *sylvestris*; 18, 24.05.2011, Keskin, 102. Euro.-Sibr.
- FERULA L. / ÇAKŞIR.**
- Ferula drudeana* Korovin; 2, 15.05.2012, Keskin, 738. D. Akd. Endemik. (VU).
- F. orientalis* L.; 19, 02.07.2011, Keskin, 363. Ir.-Tur.
- F. elaeochytris* Korovin; 8, 16.05.2012, Keskin, 789. D. Akd.
- FERULAGO W. Koch / ŞEYTANTERESİ.**
- Ferulago humilis* Boiss.; 2, 15.05.2012, Keskin, 739. D. Akd. Endemik. (LC).
- F. pachyloba* (Fenzl) Boiss.; 8, 16.05.2012, Keskin, 800; 17, 22.06.2012, Keskin, 937. Endemik. (VU).
- MALABAILA Hoffm / KOYUNEKMEĞİ.**
- Malabaila secacul* Banks & Sol.; 2, 15.05.2012, Keskin, 740; 6, 16.05.2012, Keskin, 801.
- ZOSIMA Hoffm. / PEYİNİROTU.**
- Zosima absinthifolia* (Vent.) Link; 10, 22.10.2011, Keskin, 567.
- TORDYLIUM L. / DAVULOTU**
- Tordylium apulum* L.; 19, 02.07.2011, Keskin, 364. Akd.
- T. syriacum* L.; 17, 22.06.2012, Keskin, 938. D. Akd.
- LASER Borkh. / KEFEKİMYONU**
- Laser trilobum* (L.) Borkh. in; 6, 16.05.2012, Keskin, 802; 1, 03.07.2011, Keskin, 741.
- TURGENIOPSIS Boiss. / DEMİRPITRAK**
- Turgeniopsis foeniculacea* (Fenzl) Boiss. *foeniculacea*; 12, 14.06.2011, Keskin, 251.
- TURGENIA L. / KARAHECİ**
- Turgenia latifolia* (L.) Hoffm.; 19, 02.07.2011, Keskin, 366; 19, 02.07.2011, Keskin, 367.
- DAUCUS L. / HAVUÇ**
- Daucus carota* L.; 12, 14.06.2011, Keskin, 253.
- CAPRIFOLIACEAE / HANİMELİGİLLER**
- SCABIOSA L. / UYUZOTU**
- Scabiosa hispidula* Boiss.; 4, 13.06.2011, Keskin, 188.
- S. rotata* Bieb.; 9, 02.07.2011, Keskin, 369. Ir.-Tur.
- VALERIANA L. / KEDİOTU**
- Valeriana alliariifolia* Adams.; 10, 22.10.2011, Keskin, 568.
- V. sisymbriifolia* Vhal; 2, 15.05.2012, Keskin, 743. Ir.-Tur.
- V. dioscoridis* Sm.; 16, 15.05.2012, Keskin, 640. D. Akd.
- V. tuberosa* L.; 17, 22.06.2012, Keskin, 940.
- VALERIANELLA Miller / KUZUGEVRİĞİ**
- Valerianella vesicaria* (L.) Moench; 6, 16.05.2012, Keskin, 804.
- DIPSACUS L. / FESCİTARAĞI**
- Dipsacus laciniatus* L.; 9, 02.07.2011, Keskin, 368
- ADOXACEAE / MÜRVERGİLLER**
- SAMBUCUS L. / MÜRVER**
- Sambucus nigra* L.; 2, 15.05.2012, Keskin, 742; 6, 16.05.2012, Keskin, 869. Euro.-Sibr.
- ASTERACEAE (COMPOSITAE) / PAPATYAGİLLER**
- INULA L. / ANDİZOTU.**
- Inula oculus-christi* L.; 11, 03.07.2011, Keskin, 480; 2, 15.05.2012, Keskin, 746. Avr.-Sibir.
- I. viscosa* (L.) Aiton; 16, 15.05.2012, Keskin, 641. Akd.
- HELICHRYSUM Gaertner / ÖLMEZÇİÇEK.**
- Helichrysum armenium* DC. subsp. *araxinum* (Kirp.) Takht; 11, 03.07.2011, Keskin, 481. Ir.-Tur.
- FILAGO L. / KEÇEOTU**
- Filago arvensis* L.; 9, 02.07.2011, Keskin, 370.
- ERIGERON L. / ŞİFAOTU.**
- Erigeron cilicicus* Boiss. ex Vierh.; 11, 03.07.2011, Keskin, 482. Akd. Endemik. (LC).
- CONYZA Less. / ÇAKALOTU.**
- Conyza canadensis* (L.) Cronquist; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 594.
- BELLIS L. / KOYUNGÖZÜ.**
- Bellis perennis* L.; 18, 24.05.2011, Keskin, 103; 17, 22.06.2012, Keskin, 943. Avr.-Sibir.
- DORONICUM L. / KAPLANOTU.**
- Doronicum orientale* Hoffm.; 15, 23.05.2011, Keskin, 3.
- SENECIO L. / KANARYAOTU.**
- Senecio vernalis* Waldst. & Kit.; 4, 13.06.2011, Keskin, 190.
- S. farfarifolius* Boiss. & Kotschy; 15, 23.05.2011, Keskin, 55. D. Akd. Endemik. (LC).
- S. tauricolus* Matthews; 12, 14.06.2011, Keskin, 255. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- S. pseudo-orientalis* Schischkin; 11, 03.07.2011, Keskin, 483; 17, 22.06.2012, Keskin, 944. Ir.-Tur.
- S. viscosus* L.; 11, 03.07.2011, Keskin, 484.
- TUSSILAGO L. / ÖKSÜRÜKOTU.**
- Tussilago farfara* L.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 595. Avr.-Sibir.
- ANTHEMIS L. / PAPATYA.**
- Anthemis cretica* L. subsp. *anatolica* (Boiss.) Grierson; 18, 24.05.2011, Keskin, 104.

- A. kotschyana* Boiss. var. *kotschyana*; 2, 15.05.2012, Keskin, 747.
- A. kotschyana* Boiss. var. *discoidea* (Bornm.) Grierson; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 596.
- A. fumarifolia* Boiss.; 11, 03.07.2011, Keskin, 486. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- A. pungens* Yavin; 17, 22.06.2012, Keskin, 945. Endemik. (NT).
- A. tinctoria* L. var. *tinctoria*; 17, 22.06.2012, Keskin, 1000.
- ACHILLEA L. / CİVANPERÇEMİ.**
- Achillea wilhelmsii* C.Koch.; 2, 15.05.2012, Keskin, 749; 17, 22.06.2012, Keskin, 946. Ir.-Tur.
- A. teretifolia* Willd.; 12, 14.06.2011, Keskin, 257; 11, 03.07.2011, Keskin, 487. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- A. kotschyi* Boiss. subsp. *kotschyi*; 12, 14.06.2011, Keskin, 258.
- A. setacea* Waldst. & Kit.; 8, 16.05.2012, Keskin, 750; 6, 16.05.2012, Keskin, 806. Avr.-Sibir.
- A. biebersteinii* Afan.; 12, 14.06.2011, Keskin, 259; 11, 03.07.2011, Keskin, 489. Ir.-Tur.
- A. cappadocica* Hausskn. & Bornm.; 4, 13.06.2011, Keskin, 191. Endemik. Ir.-Tur. (LC).
- TANACETUM L. / PİREOTU.**
- Tanacetum argenteum* (Lam.) Willd. subsp. *canum* (C.Koch) Grierson var. *canum*; 4, 13.06.2011, Keskin, 192; 9, 02.07.2011, Keskin, 374.
- T. nitens* (Boiss. & Noë) Grierson; 4, 13.06.2011, Keskin, 193; 12, 14.06.2011, Keskin, 260. Endemik. (LC).
- ARTEMISIA L. / YAVŞAN**
- Artemisia vulgaris* L.; 10, 22.10.2011, Keskin, 570; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 597.
- GUNDELIA L. / KENGER.**
- Gundelia tournefortii* L. var. *tournefortii*; 6, 14.06.2011, Keskin, 261. Ir.-Tur.
- CIRSİUM Miller. / KÖYGÖÇÜREN.**
- Cirsium libanoticum* DC. subsp. *arachnoideum* Davis & Parris; 4, 13.06.2011, Keskin, 195. Ir.-Tur.
- PTILOSTEMON Cass. / BOZLANOTU.**
- Ptilostemon afer* (Jacq.) Greuter. subsp. *eburneus* Greuter; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 598. Endemik.
- CARDUUS L. / EŞEKDİKENİ.**
- Carduus nutans* L. subsp. *nutans* sensu lato.; 17, 22.06.2012, Keskin, 947.
- RHAPONTICUM Ludwig. / KEKREDİKENİ.**
- Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo, Ann. Bot.; 8, 16.05.2012, Keskin, 751. Ir.-Tur.
- CENTAUREA L. / PEYGAMBERÇİÇEĞİ.**
- Centaurea virgata* Lam.; 11, 03.07.2011, Keskin, 491. Ir.-Tur.
- C. cheirollopha* (Fenzl) Wagenitz; 9, 02.07.2011, Keskin, 376. D. Akd. Lübnan.
- C. solstitialis* L. subsp. *solstitialis*; 6, 14.06.2011, Keskin, 265; 17, 22.06.2012, Keskin, 948.
- C. urvillei* DC. subsp. *urvillei*; 9, 02.07.2011, Keskin, 377. D. Akd.
- C. ptosimopappa* Hayek; 10, 22.10.2011, Keskin, 571. D. Akd. Endemik. (VU).
- C. mucronifera* DC.; 4, 13.06.2011, Keskin, 196; 11, 03.07.2011, Keskin, 493. Ir.-Tur. Endemik. (LC).
- C. triumfettii* All.; 6, 16.05.2012, Keskin, 872.
- CRUPINA (Pers.) DC. / GELİNDÖNDÜREN.**
- Crupina crupinastrum* (Moris) Vis.; 6, 14.06.2011, Keskin, 267.
- XERANTHEMUM L. / KAĞITÇİÇEĞİ.**
- Xeranthemum annuum* L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 752.
- ECHINOPS L. / TOPUZ.**
- Echinops viscosus* DC. subsp. *bithynicus* (Boiss.) Rech.; 14, 10.04.2012, 37-24-37 kuzey, 35-02-52 doğu, Keskin, 599. Ir.-Tur.
- CICHORIUM L. / HİNDİBA.**
- Cichorium intybus* L.; 11, 03.07.2011, Keskin, 494.
- SCORZONERA L. / TEKESAKALI.**
- Scorzonera mollis* Bieb. subsp. *szowitzii* (DC.) Chamberlain; 15, 23.05.2011, Keskin, 57. Ir.-Tur.
- S. tomentosa* L.; 9, 02.07.2011, Keskin, 378; 17, 22.06.2012, Keskin, 949. Ir.-Tur. Endemik.
- TRAGOPOGON L. / YEMLİK.**
- Tragopogon longirostris* Bisch. ex Schultz Bip. var. *longirostris*; 18, 24.05.2011, Keskin, 106.
- T. coloratus* C.A.Meyer; 6, 16.05.2012, Keskin, 73. Ir.-Tur.
- T. latifolius* Boiss. var. *latifolius*; 4, 13.06.2011, Keskin, 198; 9, 02.07.2011, Keskin, 379. Ir.-Tur.
- T. latifolius* Boiss. var. *angustifolius* Boiss.; 6, 14.06.2011, Keskin, 271. Ir.-Tur.
- LEONTODON L. / ASLANDIŞI.**
- Leontodon asperimus* (Willd.) J. Ball; 6, 14.06.2011, Keskin, 273. Ir.-Tur.
- L. crispus* Vill. subsp. *asper* (Waldst. & Kit.) Rohl. var. *setulosus* (Hal.) Kupicha; 23, 10.04.2012, Keskin, 600.
- L. oxylepis* Boiss. & Heldr. var. *oxylepis*; 23, 10.04.2012, Keskin, 601. D. Akd.
- SONCHUS L. / EŞEKGEVREĞİ**
- Sonchus asper* (L.) Hill subsp. *glaucescens* (Jordan) Ball; 6, 14.06.2011, Keskin, 274.
- REICHARDIA Roth / KARASAKIZ**
- Reichardia glauca* Matthews; 11, 03.07.2011, Keskin, 496. Ir.-Tur.
- HIERACIUM L. / ŞAHİNÖTU.**
- Hieracium pannosum* Boiss.; 9, 02.07.2011, Keskin, 380. D. Akd.
- H. bornmuelleri* Freyn; 11, 03.07.2011, Keskin, 497; 17, 22.06.2012, Keskin, 950. Endemik. (LC).
- PILOSELLA Hill / TIRNAKOTU.**
- Pilosella piloselloides* (Vill.) Sojak. subsp. *megalomastix* (NP.) Sell & West; 6, 14.06.2011, Keskin, 275.
- LACTUCA L. / MARUL.**
- Lactuca muralis* (L.) Gaertn.; 8, 16.05.2012, Keskin, 753. Avr.-Sibir.
- Lactuca tuberosa* Jackq., Hort. Bot. Vindob.; 9, 02.07.2011, Keskin, 381. D. Akd.
- LAPSANA L. / ŞEBREK.**
- Lapsana communis* L.; 8, 16.05.2012, Keskin, 754.
- TARAXACUM Wiggers. / KARAHİNDİBA.**
- Taraxacum montanum* (C.A.Meyer) DC.; 17, 22.06.2012, Keskin, 951. Ir.-Tur.
- T. officinale* Weber; 18, 24.05.2011, Keskin, 107.
- CREPIS L. / KISKIS.**
- Crepis reuterana* Boiss. subsp. *reuterana*; 17, 22.06.2012, Keskin, 952. D. Akd.
- C. foetida* L. subsp. *rhoeadifolia* (Bieb.); 4, 13.06.2011, Keskin, 202.
- C. sancta* (L.) Babcock; 15, 23.05.2011, Keskin, 54.
- CAMPANULACEAE / ÇANÇİÇEĞİGİLLER.**
- CAMPANULA L. / ÇANÇİÇEĞİ.**
- Campanula psilostachya* Boiss. & Kotschy; 9, 02.07.2011, Keskin, 383. Endemik. (NT).
- C. glomerata* L. subsp. *hispida* (Witasek) Hayek; 11, 03.07.2011, Keskin, 498. Avr.-Sibir.
- C. involukrate* L.; 11, 03.07.2011, Keskin, 500; 11, 03.07.2011, Keskin, 501. Ir.-Tur.
- C. cymbalaria* L.; 6, 16.05.2012, Keskin, 874. D. Akd.
- ASYNEUMA Griseb. & Schenk. / ÇİÇEKLİDEĞNEK.**

Asyneuma limonifolium (L.) Jonchen subsp. *limonifolium*;

10, 22.10.2011, Keskin, 572.

MICHAUXIAL Herit. / KEÇİBİCİĞİ

Michauxia campanuloides L'hérit.; 2, 15.05.2012, Keskin, 704. D. Akd.

M. tchihatchewii Fisch. & Mey.; 9, 02.07.2011, Keskin, 384. D. Akd. Endemik.

4. Sonuçlar ve tartışma

Yapılan çalışma sonucu elde edilen verilere göre en çok takson içeren familya ve cins, mevcut taksonların fitocoğrafik bölgelere göre dağılımları ve endemizm oranı daha önceki yıllarda araştırma alanına yakın çevrelerde gerçekleştirilen diğer çalışmalar ile kıyaslanmıştır (Tablo 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4). Karşılaştırma yapılan diğer çalışmalar şunlardır;

1. Kızıldağ Yayla (Adana) ve Çevresinin Florası, 2. Akdağ (Pozantı-Adana) ve Çevresinin Florası [1], 3. Bolkar Dağları'nın (Orta Toroslar) Flora ve Vejetasyonu [12], 4. Alihoca-Gümüş-Maden Köyleri Arasındaki Alanın ve Çevre Florası [8], 5. Aladağların (Zamantı Irmağı Yahyalı Arası, Kayseri) Florası [5], 6. Pozantı Dağı (Niğde) ve Aladağların (Niğde Kesimi) Florası [20], 7. Mazmılı Dağı (Adana) ve Çevresinin Florası [21].

Tablo 4.1. En çok taksona sahip familyaların kıyaslanması

Yapılan Çalışmalar ►	1	2	3	4	5	6	7
Takson sayıları ►	574	739	1645	540	713	1122	766
Asteraceae %	11,6	13,1	10,4	11,5	9,9	11,7	11,2
Fabaceae %	9,5	9,7	10,9	10,8	10,5	10,3	10,8
Brassicaceae %	9,2	8,3	5,7	9,9	7,7	8,4	8,4

Tablo 4.2. Fitocoğrafik bölgelerin kıyaslanması

Yapılan Çalışmalar ►	1	2	3	4	5	6	7
Takson sayıları ►	574	739	1645	540	713	1122	766
Akdeniz %	18,8	19,4	26,9	22,9	16,7	40,9	19,2
İran-Turan %	17,2	16,9	13,9	20,9	28,5	22,3	19,5
Avrupa-Sibirya %	3,1	5,1	7,2	5,6	4,2	5,6	6,3

Tablo 4.3. Endemizm oranlarının kıyaslanması

Yapılan Çalışmalar ►	1	2	3	4	5	6	7
Takson sayıları ►	574	739	1645	540	713	1122	766
Endemizm Oranı %	17,4	13,6	18,5	20,2	20,3	22,3	19,5

Tablo 4.4. En çok taksona sahip cinslerin kıyaslanması

Yapılan Çalışmalar ►	1	2	3	4	5	6	7
Takson sayıları ►	574	739	1645	540	713	1122	766
Astragalus	14	17	46	15	27	34	21
Silene	10	16	34	12	19	21	20
Salvia	10	13	18	11	14	20	16
Ornithogalum L.	8	5	6	6	8	9	4

Endemik taksonların tehlike kategorilerine bakıldığında; 38'i LC (En az endişe verici), 7'si NT (Tehdit altına girebilir), 10'u VU (Zarar görebilir), 5'i CD (Koruma önlemi gerektiren), 1'i EN (Tehlikede), 1'i CR (Kritik tehlikede), 1'i DD (Veri yetersiz) şeklindedir [19]. Tehlike kategorileri bulgular kısmında takson adlarının sonuna eklenmiştir. Çalışma alanından toplanan taksonlardan 25 tanesi 6B karesi için yeni kayıt olarak belirlenmiş olup ve bu kareye katkı sağlamıştır.

Yapılan bu akademik çalışma ile hazırlanan yüksek lisans tezinin yanı sıra 21. Ulusal Biyoloji Kongresinde "Kızıldağ Yayla (Adana) ve Çevresinde Yayılış Gösteren Geofitler" adlı bir sunum yapılmıştır. Ayrıca Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimince desteklenen tez projemizin sonuç raporu ilgili birime sunulmuştur. Bunu yanı sıra Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne özgün bir yüksek lisans tezi kazandırılmıştır. Ayrıca yapılan çalışma ile Türkiye florasına katkının yanı sıra; flora, etnobotanik, bitkisel drog, tıbbi bitki, aktif madde analizcileri ve anti-mikrobiyal çalışanlar için kaynak oluşturabilecek taksonların varlığı ortaya konulmuştur. En önemli sonuçlardan biriside alandan topladığımız Myrsinaceae familyası, *Lysimachia* cinsine ait *Lysimachia savranii* Başköse & Keskin Türkiye florası için türü yeni tür ve Akdeniz Bölgesi Adana Bölümü için yeni kayıt olarak yayınlanmıştır. [6]

Teşekkür

Bu çalışma, "Kızıldağ Yayla (Karaisalı-Adana) ve Çevresinin Florası" adlı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bu projeyi destekleyen Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (BAP) teşekkür ederim.

Simgeler ve Kısaltmalar

‰: Yüzde, m/sn: Metre / Saniye, &: ve, °: Derece, ': Dakika, m.: Metre, mm³: Milimetre küp, °C: Santigrat derece, yy.: Yüzyıl, N: Kuzey, E: Doğu, W: Batı, **GAZI**: Gazi Üniversitesi Herbariyumu.

Kaynaklar

- [1] Akıncı H., Başköse İ. ve Savran A. (2018). "Akdağ (Pozantı-Adana) ve Çevresinin Florası", *Biological Diversity and Conservation*, 11/1 (2018) 13-29.
- [2] Akman, Y., (2011). İklim ve Biyoiklim, Ankara, *Palme Yayın Dağıtım*.
- [3] Anonim, (2006). Jeoloji Haritaları Serisi Kozan N-34 Paftası, Adana, *İller Bankası Adana Bölge Müdürlüğü*.
- [4] Aytaç Z., (1997). "The Revision of the Section *Dasyphyllum* Bunge of the Genus *Astragalus* L. of Turkey", *Turk J Bot*, 21, 31-57.
- [5] Bağcı, Y. (1998). Aladağların (Zamantı Irmağı Yahyalı Arası, Kayseri) Florası, Doktora Tezi, Konya. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [6] Başköse İ, Keskin A, Gurbanov K. (2016). *Lysimachia savranii* (Primulaceae), a new species from the eastern Taurus in Turkey. *Phytotaxa* 267(3): 228–232. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.267.3.6>
- [7] Baytop, A., (1998). "İngilizce-Türkçe Botanik Klavuzu", İstanbul, *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, No: 70.
- [8] Bilgili, B. (2003). "Alihoca-Gümüş-Maden Köyleri (Ulukışla) Arasındaki Alanın ve Çevresinin Florası", Yüksek Lisans Tezi, Niğde, *Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [9] Çetin Ö., Duran, A., Martin, E., and Tuştaş, S., (2012). "A Taxonomic Study of the Genus *Fibigia* Medik. (Brassicaceae)", *African Journal of Biotechnology* 11(1), 109-119.
- [10] Davis, P. H., (1965-1988). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol: I – X. UK, *Edinburgh Univ. Press*.
- [11] Ekim T., (2009). "Türkiye'nin Nadir Endemikleri", İstanbul, *Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları*.
- [12] Gemici, Y. (1994). "Bolkar Dağları'nın (Orta Toroslar) Flora ve Vegetasyonu Üzerine Genel Bilgiler", *Doğa Türk Botanik Dergisi*, 18, 2: 81-89.
- [13] Göktürk R. S.ve Sümbül H., (2014). "A taxonomic revision of the genus *Cephalaria* (Caprifoliaceae) in Turkey" *Turk J Bot* 38: 927-968 © TÜBİTAK
- [14] Güner A., Özhatay, N., Ekim T. ve Başer K.H.C. (Eds.), (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. XI, Edinburgh, *Edinburg Universty Press*.
- [15] Güner A., Aslan S., Ekim T., Vural M, Babaç, M.T., (2012). "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)". İstanbul, *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*.
- [16] Güner A., Ekim, T., (2014-2017). Resimli Türkiye Florası Cilt I ve II, *ANG vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi, Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları*, İstanbul,
- [17] Karaman Erkul, S.ve Aytaç, Z., (2013). "The Revision of The Genus *Oxytropis* (Leguminosae) in Turkey", *Turk J Bot* 37: 24-38, TÜBİTAK doi:10.3906/bot-1109-17.
- [18] Mutlu B., (2002). Türkiye'nin *Arabis* L. (Brassicaceae) Cinsinin Revizyonu, Doktora Tezi (s. 169-291), Ankara, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [19] NGBB ve ANG Vakfı, Tehdit Altında Bitki Türleri Listesi, <http://www.tehditaltindabitkiler.org.tr>, 27.11.2016.
- [20] Savran, A. (1997). "Karaisalı Dağı (Niğde) ve Aladağların (Niğde Kesiminin) Florası", Doktora Tezi, Konya. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [21] Savran, A. (2005). "Mazmılı Dağı (Adana) ve Çevresinin Florası", *Ot Sistematik Botanik Dergisi* 12, 2, 141-174.
- [22] Ünlügenç U. ve Demirkol C., (1988). "Kızıldağ Yayla (Adana) Dolayımın Stratigrafisi" (s. 32-33, 17-25), Adana, *Ç.Ü. Mühendislik Mimarlık Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü*.
- [23] APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *APG III. Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.



A new variety of the *Tripleurospermum* (Asteraceae) from Turkey

Mehmet Ufuk ÖZBEK ^{*1}, Hilal ONAYLI ²
ORCID: 0000-0002-2342-4143; 0000-0002-6291-7231

¹Gazi University, Department of Biology, Faculty of Science, 06500, Teknikokullar, Ankara, Turkey

²Basınevleri District, 27. Street, Vadi Ankara Site, 5/14, Keçiören

Abstract

Tripleurospermum fissurale var. *radiata* (Asteraceae) was determined at Artvin Province in North-eastern Anatolia (Turkey) and was defined as a new variety for the scientific world. The description of the taxon, its distribution, ecology, detailed illustrations and achene morphology have been given in this study. It can be easily differentiated from the *T. fissurale* by its ligulate flowers.

Key words: Artvin, Asteraceae, new variety, *Tripleurospermum*, Turkey

----- * -----

Türkiye'den yeni bir *Tripleurospermum* (Asteraceae) varyetesi

Özet

Tripleurospermum fissurale var. *radiata*, Kuzeydoğu Anadolu'da Artvin ilinde tespit edilmiş ve bilim dünyası için yeni bir varyete olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada taksonun betimi, yayılışı, ekolojisi, aken morfolojisi ve detaylı resmi verilmiştir. Dilsel çiçeklere sahip olması ile *T. fissurale* türünden kolayca ayırt edilir.

Anahtar kelimeler: Artvin, Asteraceae, yeni varyete, *Tripleurospermum*, Türkiye

1. Introduction

Within the Angiosperms, Asteraceae is a family which represents the greatest number species in the world. With approximately 1600-1700 genera and 24000-30000 species, they are distributed throughout the entire globe, excluding Antarctica. The number of species of the family constitutes approximately 10% of the flowering plants, which is estimated to be between 250000-350000 [1]; whereas, Anthemideae, which is one of the 43 tribes of the family, has a distribution of 111 genera and approximately 1800 species [2].

The Anthemideae tribe consists of 13 genera in the Flora of Turkey. These are the genera of *Anthemis* L., *Chamaemulum* Miller, *Anacyclus* L., *Leucocyclus* Boiss., *Achillea* L., *Santolina* L., *Otanthus* Hoffmans. & Link, *Chrysanthemum* L., *Leucanthemum* Mill, *Tanacetum* L., *Matricaria* L, *Tripleurospermum* Schultz Bip. and *Artemisia* L. [3].

In the differentiation of these genera and the taxa belonging to these genera, morphological characters, especially, are extremely important, such as the capitulum, involucre, receptacle and achene. For example, while the capitulum is heterogamous and radiate in the *Anacyclus*, *Achillea*, *Chrysanthemum* and *Leucanthemum*, they are homogamous and discoid in the *Santolina* and *Otanthus*. The fact that the involucre is oblong to depressed-globose (not hemispherical) in the tribe belonging to the *Artemisia* differentiates them from the other genera of the tribe. The receptaculum is with palea in the *Anthemis* and *Achillea*, whereas it is without palea in the *Tripleurospermum* and *Tanacetum*. While the achene is cylindrical, oblong or obpyramidal in the *Tripleurospermum* and generally with 2 glands, in the *Achillea*, it is compressed, oblong or obovate and without glands. However, in the *Anthemis*, it is

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905325168130; Fax.: +903122122279; E-mail: ufukozbek@gazi.edu.tr

obconical, cylindrical or in the shape of a square on the cross-section of its breadth and sometimes it is compressed dorsiventrally and the gland is absent. There is no pappus in *Chrysanthemum*, *Otanthus* and *Santolina*, whereas it has been reduced to the shape of a corona in the other genera.

In recent years, numerous taxonomical, anatomical, karyological and palynological studies have been made on the genera, including the Anthemideae tribe [2,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13]. Furthermore, research has been undertaken on the phylogenetic relationships amongst the genera, with the studies being made at a molecular level. At the conclusion of these studies, there have been changes made in the systematic position of some genera. For example, according to the Flora of Turkey, all the species located in the *Cota* (J.Gay) Rupr. section of the *Anthemis* have been transferred to the *Cota* J.Gay ex Guss. [14,15,16]. On the other hand, the *Chamaemelum mixtum* (L.) All., *Cladanthus mixtus* (L.) Oberpr. & Vogt, *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link, *Achillea maritima* (L.) Ehrend. & Y.P.Guo and the *Leucocyclus formosus* Boiss. have been accepted as a synonym of the *Achillea formosa* (Boiss.) Sch. Bip. [17,18,19]. In accordance with this information, the Anthemideae tribe is represented in the present-day with 12 genera in Turkey with the inclusion of the *Cota* and *Cladanthus* Cass.

Tripleurospermum is a genus that is distributed throughout the world with approximately 40 species in Europe, North Africa, temperate Asia and North America [20]. The first revision of the genus in Turkey was made in the work entitled *The Flora of Turkey and the East Aegean Islands* and 26 taxa were described. In subsequent years, 2 new records and 3 new species were added to Turkish Flora [6,20,21,22,23,24]. The addition of these taxa to the flora of Turkey has increased the number of *Tripleurospermum* taxa showing a distribution in Turkey to 32 (29 species, 3 varieties). Of these taxa, 16 are endemic.

When examining the specimens located at Ankara University, Faculty of Pharmacy Herbarium in 2018, two *Tripleurospermum* specimens were encountered which had not previously been identified. When the detailed morphological investigations of the specimens were made, one of these species was identified as *Tripleurospermum fissurale* (Sosn.) E. Hossain., whereas the other was a specimen of the same species having ligulate flowers. At the conclusion of the field studies which we made a year later in Yusufeli District of Artvin Province, both taxa displayed a distribution and we decided that the specimens that had a ligule were a new variety of the *Tripleurospermum fissurale*.

2. Materials and methods

The materials of the study were composed of specimens of *Tripleurospermum fissurale*, which was distributed in the environs of Dereçi Village in Yusufeli District of Artvin Province in May 2019. There was an attempt to identify the specimens collected in a detailed manner from literature related to the subject [25,26,27,28,29]. Furthermore, the study materials were compared with specimens found in the AEF, ANK, GAZI and HUB herbaria. Photographs were taken of the specimens from the study area.

The achenes were first investigated using a Leica EZ4D stereomicroscope. In order to determine their average sizes, at least 20 mature fruits were measured for each species. For SEM analyses, the mature achenes were placed on stubs and covered with gold. They were investigated and photographed with a JEOL JSM 6060 Scanning Electron Microscope at the SEM laboratory of the Faculty of Science, Gazi University, Ankara. The terminology was adopted by Barthlott [30], İnceer et al. [9] and Özbek et al. [12].

3. Results

3.1. *Tripleurospermum fissurale* (Sosn.) E. Hossain, Notes Royal Botanical Garden Edinburgh 33: 435 (1975).

Type: [Turkey A8/9 Erzurum] prov. Kars: Olty prope p., Ukjam in rupium fissuris, 17 v 1912, *Sosnowsky* (photo E!).

= *Chamaemelum fissurale* Sosn. in Monit. Jard. Bot. Tiflis, Ann. 11: 15 (1915).

Description: Annual or biennial, 30–70 cm. Stem solitary or divided at base, arising from taproot. Leaves sessile, laciniae small, triangular-acute or linear-acute, mucronate, ± densely pubescent; lower leaves 3-pinnatisect; upper leaves 1-2 pinnatisect. Capitula heterogamous, radiate or homogamous, discoid. Involucre hemispherical, 7–18 mm broad. Peduncles long, 5–15 cm, glabrous. Phyllaries 4-seriate, glabrous; outer phyllaries 2–2.5 × 1–1.5 mm, ovate-lanceolate; inner phyllaries 4 × 1–1.5 mm, oblong-lanceolate, all with pale brownish membranous margins. Receptacle ovoid, epaleate. Ray flowers (if present) female, 15–20, white, elliptic, 8–10 × 3–4.5 mm, 3-lobed at apex. Disc flowers numerous, hermaphrodite, yellow, 5-lobed, lobes 0.2–0.4 mm, tube cylindrical, 2–2.2 mm, eglandular at tips. Anthers 5, coherent along most of their length and forming a tube around style, filaments ca. 0.4 mm, appendages conical, blunt at base; style of disc flowers ca. 2 mm, bifid, branches ca. 0.5 mm. Achenes 1.3–2.5 × 0.4–1 mm, oblong or obpyramidal, brown at maturity copiously mucilaginous, dorsal side smooth or faintly tuberculate, ventral side 3-ribbed; ribs thickened, white, fissures narrow; corona lobate, white, 0.25–0.8 mm.

Specimens examined: *Tripleurospermum fissurale* TURKEY. A8 Artvin: Yusufeli to İspir 2 km, rocky slopes, 40°47'59"E, 41°31'52"N, 25 May 2019, 605 m, U.Özbek 3119 (GAZI); Yusufeli-İspir road, around Kozakura district, on the rock, 17 May 2004, 590–620 m, H. Duman 9416 et al. (GAZI); Artvin: Yusufeli, Ahlat district, dry steep

slopes, 20 May 1983, 650 m, *A. Güner* 4821 & *M. Vural* (AEF), Artvin: From İspir to Yusufeli, 10 km to Yusufeli, roadsides, 31 May 2008, 653 m, *H. Inceer* 533 (photo E).

3.2. *Tripleurospermum fissurale* (Sosn.) E. Hossain var. *radiata* Özbek var. *nova* Figures 1-4.

Type: TURKEY. A8 Artvin. Yusufeli, 1.5 km from Dereiçi village, rocky slopes, 40°51'43"E, 41°31'30"N, 25 May 2019, 745 m, *U. Özbek* 3117 & *M. Ekici* (holotype GAZI, isotype AEF, ANK, NGBB).

Diagnosis: The new variety is similar to *Tripleurospermum fissurale*, but it clearly differs by the capitulum presence of ray flowers.

Paratypes: TURKEY. A8 Artvin: Yusufeli, Dereiçi village, rocky slopes, 20 May 1983, 720 m, *A. Güner* 4808 & *M. Vural* (AEF).

Ecology: *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata*, which is endemic to Turkey, grows between 720 and 745 m. elevation on rocky slopes. The variety grows together with *Cleome ornithopodioides* L., *Chesneya elegans* Fomine, *Haplophyllum myrtifolium* Boiss., *Dianthus orientalis* Adams, *Veronica oltensis* Woronow ex Elenevsky, *Astragalus aduncus* Willd., *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm., *Tragopogon reticulatus* Boiss. & A.Huet and *Micromeria elliptica* K.Koch.

Phenology: The new variety was observed flowering from April to June and fruiting from May to July.

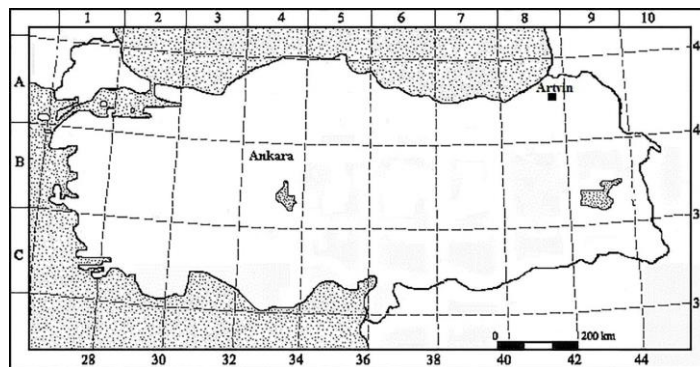


Figure 1. Distribution map of *Tripleurospermum fissurale* var. *fissurale* and *T. fissurale* var. *radiata* (black square)

3.3. Achene Morphology

The achenes of *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata* are blackish-brown, obpyramidal or oblong, 2–2.5 × 0.7–1 mm, faintly tuberculate in anterior and 3-ribbed in posterior. Epidermal cells are rectangular with conspicuous, straight or rarely undulate anticlinal walls, showing a reticulate appearance and conspicuous, concave, rugose striped periclinal walls. These cells contain slime. The corona is lobate white and 0.5–0.8 mm in length. In *T. fissurale* var. *fissurale*, the achenes are blackish-brown, obpyramidal or oblong, 1.3–2 × 0.4–0.6 mm, tuberculate in anterior and 3-ribbed in posterior. Epidermal cells are rectangular with conspicuous, straight anticlinal walls, showing a reticulate appearance and conspicuous, concave, rugose striped periclinal walls. These cells contain slime. The corona is lobate, white and 0.25–0.5 mm in length. In *T. oreades*, the achenes are dark brown, obpyramidal or oblong, 1.5–2.2 × 0.6–1 mm, tuberculate in anterior and 3-ribbed in posterior. Epidermal cells are rectangular or polygonal with conspicuous or inconspicuous, straight anticlinal walls, showing a reticulate appearance and conspicuous, flat or concave, ruminated or striped periclinal walls. These cells contain slime. The corona is lobate, white and 0.5–1 mm in length (Fig. 4).

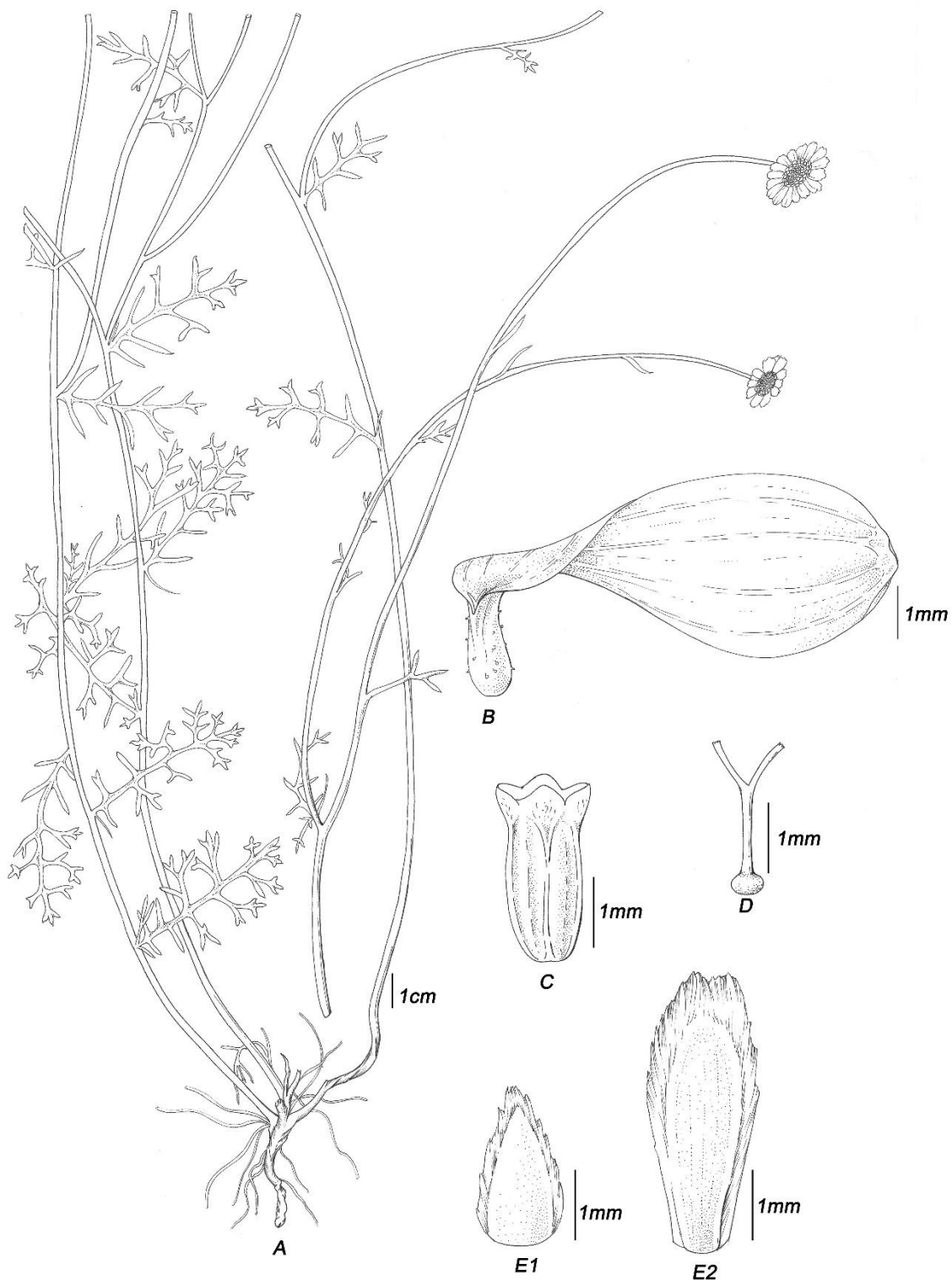


Figure 2. *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata*, A- Habit; B- Ray flowers; C- Achene, D- Style; E1- Outer phyllaries; E2- Inner phyllaries

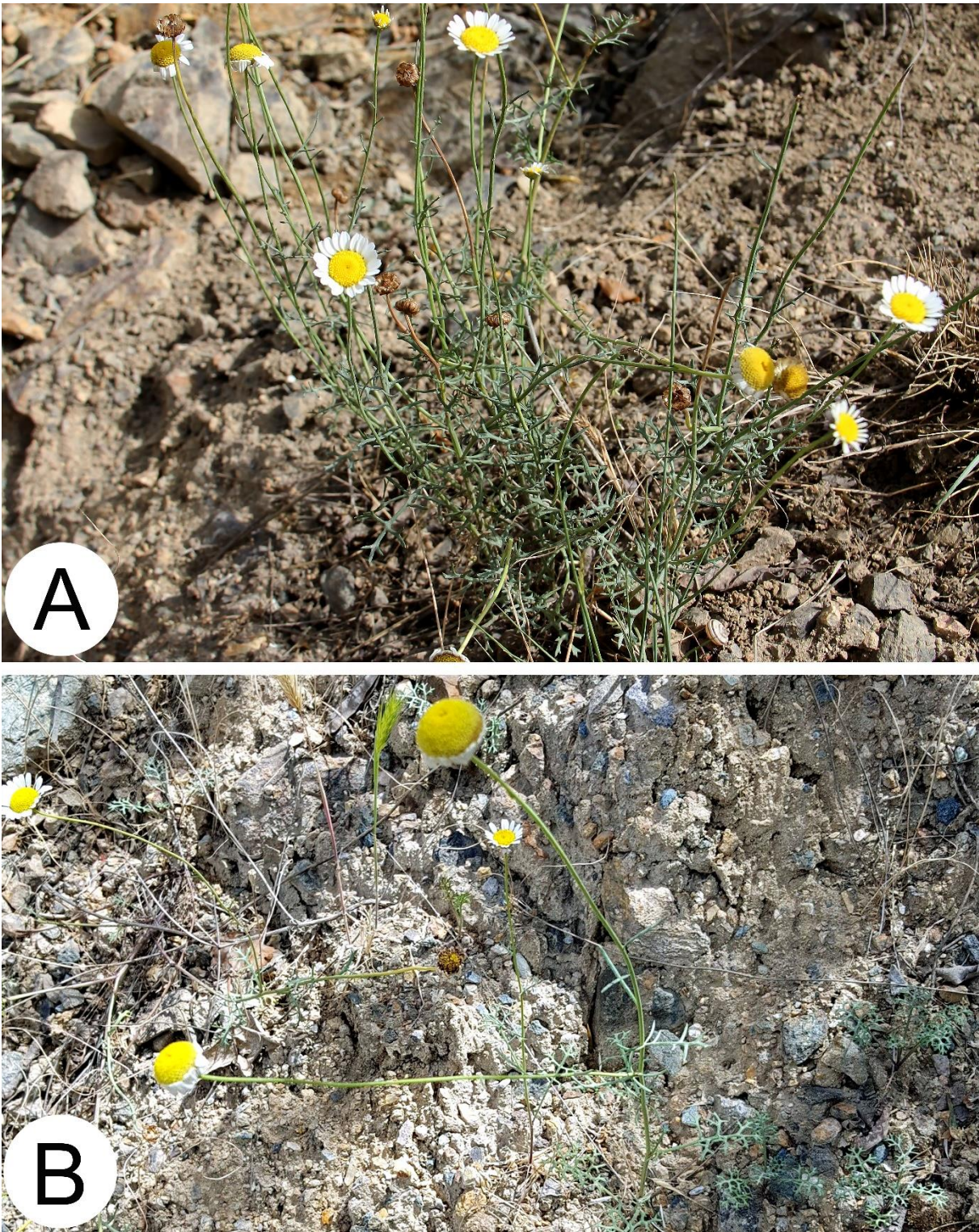


Figure 3. *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata*, A-B. General views of habit

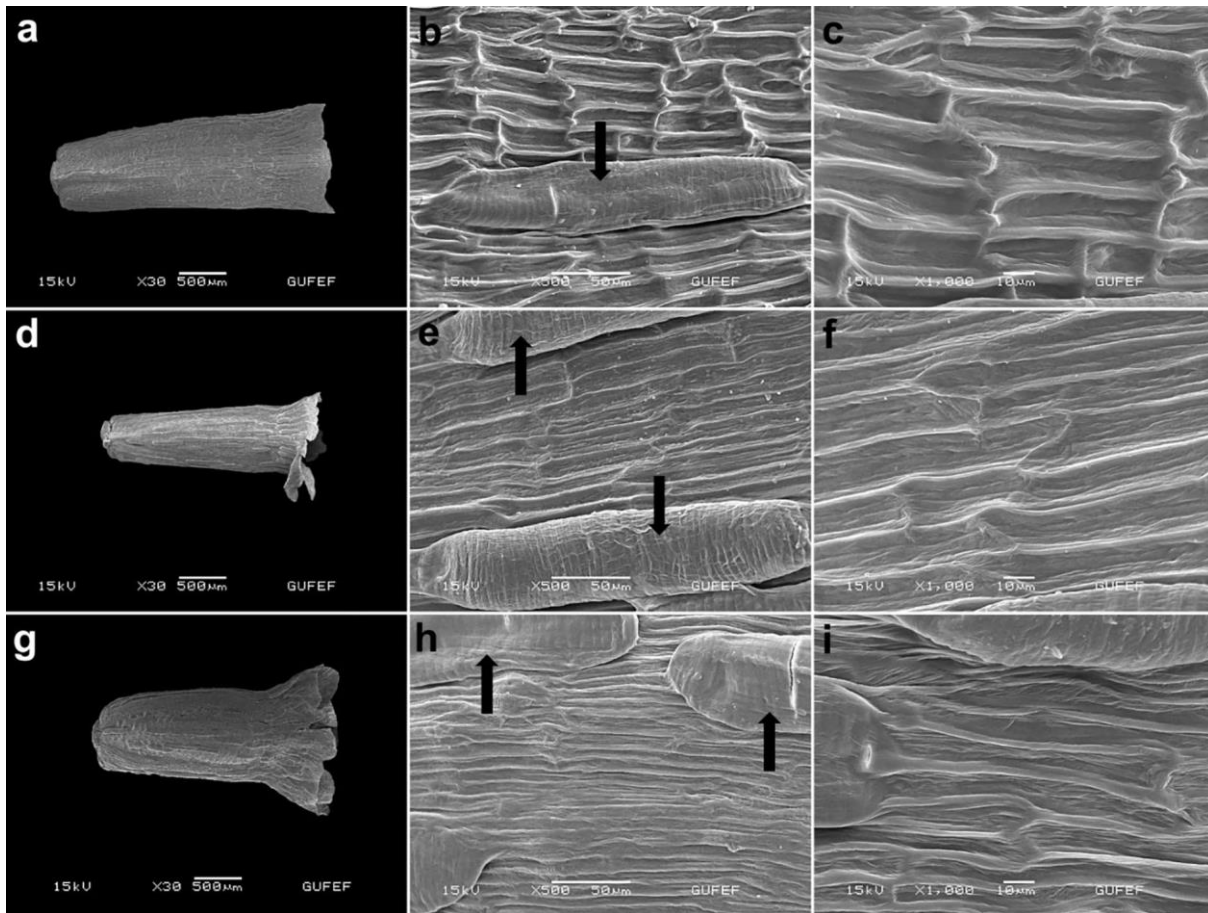


Figure 4. SEM micrographs of achenes of *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata* (a-c), *T. fissurale* var. *fissurale* (d-f), *T. oreades* (g-i). a, d, g). General aspect; b, c, e, f, h, i). Surface ornamentation. Black arrows indicate slime cells.

4. Conclusions and discussion

Tripleurospermum fissurale is one of 4 species which is distributed in Turkey and which does not have ligulate flowers. The other species are *T. disciforme* (C.A. Meyer) Schultz Bip., *T. decipiens* (Fisch. & Mey.) Bornm. and *T. microcephalum* (Boiss.) Bornm. Amongst these, the only endemic species is *T. fissurale*. The leaves have very small laciniae, the flowers have a long peduncle, the corolla lobes are eglandular and the achenes are anteriorly smooth or faintly tuberculate, posteriorly 3-ribbed and include an abundant amount of mucilage and are differentiated from the other three species by having a long corona. However, the *T. fissurale* var. *radiata*, which is distributed in the same geographical area, is easily differentiated from *T. fissurale* by the existence of ligulate flowers. These types of variations are also observed in some genera within the tribe. For example, there are varieties of the *Anthemis aciphylla* Boiss. that have both radiate and discoid capitula and are endemic in these two taxa. A similar situation also occurs in the taxa belonging to the *Anthemis pectinata* (Bory & Chaub.) Boiss. & Reut., *Anthemis pauciloba* Boiss., *Anthemis calcarea* Sosn. and *Tanacetum balsamita* L.

Identification key to new variety with *T. fissurale* is given below:

1. Capitula discoid.....var. **fissurale**
 1. Capitula radiate.....var. **radiata**

T. fissurale var. *radiata* resembles the *T. oreades*, which has a distribution in the same region, since the new variety has ligulate flowers on the capitula and they are eglandular at the corolla tips. The fact that it is annual or biennial (not perennial), that the lower leaves are 3-pinnatisect (not 1-2-pinnatisect) and deep laciniae, triangular-acute or linear-acute (not linear-lanceolate or linear-filiform), the capitula 2-3 and 6-8 mm in width excluding the ligulate flowers (single and sometimes 2-9 and not a width of 1–1.8 mm excluding the ligulate flowers), that the outer phyllaries are ovate-lanceolate (not triangular-acute), that the inner phyllaries are oblong-lanceolate (not oblong), that the receptacles are ovoid (not ovoid-conical, ovoid or \pm hemispherical), that the achenes are 2–2.5 \times 0.7–1 mm (not 1.5–2.2 \times 0.6–1 mm) and that the corona is 0.5–0.8 mm (not 0.5–1 mm), shows its difference (Table 1).

The achenes of the three investigated taxa are very similar to each other. In general, achenes are blackish-brown or dark brown, obpyramidal or oblong, (1.3-)1.5–2.5 \times 0.4–1 mm, tuberculate in anterior and posteriorly 3-

ribbed. The surface ornamentation shows a little difference amongst the *T. fissurale* var. *radiata*, *T. fissurale* var. *fissurale* and *T. oreades*. The ornamentation on the achene surface is reticulate-rugose-striate in *T. fissurale* var. *radiata* and *T. fissurale* var. *fissurale*, whereas it is reticulate-ruminant-striate in *T. oreades*. All taxa have distinct slime cells on their achene surfaces. These results are in agreement with the data about *T. fissurale* of İnceer et al. (2012b). Enayet Hossain (1975) and also İnceer et al. (2012b) stated that the presence or absence of the slime has a diagnostic value for *Tripleurospermum* species.

Table 1. Morphological comparison of *Tripleurospermum fissurale* var. *radiata* and *T. oreades*

Characters	<i>T. fissurale</i> var. <i>radiata</i>	<i>T. oreades</i>
Habit	annual or biennial	perennial
Lower leaves	3-pinnatisect; triangular-acute or linear-acute	1–2-pinnatisect; linear-lanceolate or linear-filiform
Capitula	2-3; 6-8 mm width	2-9; 1-1.8 mm width
Outer phyllaries	ovate-lanceolate	triangular-acute
Inner phyllaries	oblong-lanceolate	oblong
Receptacle	ovoid	ovoid-conical, ovoid or hemispherical
Achenes	2–2.5 × 0.7–1 mm	1.5–2.2 × 0.6–1 mm
Corona	0.5–0.8 mm	0.5–1 mm

Acknowledgements

The authors are grateful to the curators of AEF, ANK, GAZI and HUB who allowed us to study their *Tripleurospermum* specimens. We would like to thank Prof. Dr. Hüseyin İnceer and Prof. Dr. Hayri Duman for their helpful comments on the manuscript. We would also like to thank Prof. Murat Ekici for his help in the field study, Dr. Funda Özbek for help with the SEM photographs and seeds structure and Fatma Şen for the illustrations.

References

- [1] Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., Robinson, H. (2009). Classification of Compositae. In: Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., Bayer, R.J. (Eds.). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy. Smithsonian Institution, Washington.
- [2] Oberprieler, C., Himmelreich, S., Vogt, R. (2007). A new subtribal classification of the tribe Anthemideae (Compositae). *Willdenowia*, 37(1), 89-114. <https://doi.org/10.3372/wi.37.37104>
- [3] Davis, P.H. (1975). *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol. 5, pp. 173-324. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [4] Oberprieler, C., Vogt, R. (2006). The taxonomic position of *Matricaria macrotis* (Compositae-Anthemideae). *Willdenowia*, 36(1), 329-338. <https://doi.org/10.3372/wi.36.36128>
- [5] Özbek, M.U., Vural, M., Daşkın, R. (2011). A new species of the genus *Cota* (Asteraceae) from Uludağ, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 35(4), 331-336.
- [6] İnceer, H., Hayırlıoğlu-Ayaz, S. (2010). Chromosome numbers in *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae) and closely related genera: relationships between ploidy level and stomatal length. *Plant Systematic Evolution*, 285(3-4), 149-157. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0266-5>
- [7] İnceer, H., Özcan, M. (2011). Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 18 taxa of *Matricaria* L. and *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Anthemideae-Asteraceae) in Turkey. *Plant Systematic Evolution*, 296(3-4), 205-215. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0487-2>
- [8] İnceer, H. (2012a). *Tripleurospermum*. In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (Eds.). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, pp. 212-214. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- [9] İnceer, H., Bal, M., Çeter, T., Pınar, N.M. (2012b). Fruit structure of 12 Turkish endemic *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae) taxa and its taxonomic implications. *Plant Systematic Evolution*, 298(4), 845-855. <https://doi.org/10.1007/s00606-012-0594-8>
- [10] Özbek, M.U., İdman, D.Ö.M., Bani, B. (2014). Morphological and anatomical investigation on endemic *Cota melanoloma* and *Cota antitaurica* (Asteraceae) in Turkey. *Australian Journal of Crop Science*, 8(4), 509-514.

- [11] Özbek, M.U., Özbek, F., Başer, B., Cabi, E., Vural, M. (2016). Pollen morphology of the genus *Cota* J.Gay (Asteraceae) in Turkey. *Botany Letters*, 163(4), 435-448. <https://doi.org/10.1080/23818107.2016.1225266>
- [12] Özbek, M.U., Özbek, F., Vural, M. (2018). Achenes morphology of the genus *Cota* J. Gay (Asteraceae) from Turkey and its taxonomic significance. *Turkish Journal of Botany*, 42(2), 208-223.
- [13] Vitales, D., Feliner, G.N., Vallés, J., Garnatje, T., Fırat, M., Álvarez, I. (2018). A new circumscription of the Mediterranean genus *Anacyclus* (Anthemideae, Asteraceae) based on plastid and nuclear DNA markers. *Phytotaxa*, 349(1), 1-17. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.349.1.1>
- [14] Holub, J. (1974). New names in Phanerogamae 3. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 9(3): 261-275.
- [15] Greuter, W., Oberprieler, C., Vogt, R. (2003). The Euro+Med treatment of Anthemideae (Compositae) – generic concepts and required new names. *Willdenowia*, 33(1), 37–43. <https://doi.org/10.3372/wi.33.33102>
- [16] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (Eds.), (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- [17] Oberprieler, C., Vogt, R. (2002). *Cladanthus mixtus* L. *Oberpr. & Vogt*. In: Greuter, W., Raus, Th. (Eds.). *Med-Checklist Notulae*, 21. *Willdenowia*, 32(2), 197 p. <https://doi.org/10.3372/wi.32.32202>
- [18] Ehrendorger, F., Guo, Y.P. (2005). Changes in the circumscription of the genus *Achillea* (Compositae-Anthemideae) and its subdivision. *Willdenowia*, 35(1), 49-54. <https://doi.org/10.3372/wi.35.35102>
- [19] Lo Presti, R.M., Oppolzer, S., Oberprieler, C. (2010). A molecular phylogeny and a revised classification of the Mediterranean genus *Anthemis* s.l. (Compositae-Anthemideae) based on three molecular markers and micromorphological characters. *Taxon*, 59(5), 1441-1456. <https://doi.org/10.1002/tax.595010>
- [20] Himmelreich, S., Källersjö, M., Eldenas, P., Oberprieler, C. (2008). Phylogeny of Southern hemisphere Compositae-Anthemideae based on nr DNA ITS and cp DNA *ndhF* sequence information. *Plant Syst Evol*, 272(1-4), 131-153. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0634-y>
- [21] İnceer, H., Beyazoğlu, O. (2004). A new record for the Flora of Turkey: *Tripleurospermum subnivale* Pobed. (Asteraceae). *Turkish Journal of Botany*, 28(6), 599-601.
- [22] İnceer, H., Hayırlioğlu-Ayaz, S. (2008). *Tripleurospermum ziganaense* (Asteraceae, Anthemideae), a new species from north-east Anatolia, Turkey. *Botanical Journal of Linnean Society*, 158(4), 696-700. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2008.00883.x>
- [23] Yıldırım, Ş. (2010). Some new taxa, records and taxonomic treatments from Turkey. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 17(2), 1-114.
- [24] İnceer, H., Hayırlioğlu-Ayaz, S. (2014). *Tripleurospermum insularum* (Asteraceae, Anthemideae), a new species from Turkey. *Annales Botanici Fennici*, 51(1-2), 49-53.
- [25] Enayet Hossain, A.B.M. (1975). *Tripleurospermum* Schultes Bip. In: Davis, P.H. (Ed.). *Flora of Turkey and the Aegean Islands*. Vol. 5, pp. 295-311. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [26] Kay, Q.O.N. (1976.) *Chamomilla* L. and *Matricaria* L. In: Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.). *Flora Europaea* 4, pp.165-167. Cambridge University Press, Cambridge.
- [27] Podlech, D. (1986). *Tripleurospermum* Sch. Bip. In: Rechinger, K. (Ed.). *Flora Iranica* 158, pp. 73-80. Druck- und Verlagsanstalt, Graz.
- [28] Pobedimova, E.G. (1995). *Tripleurospermum* Sch. Bip. In: Shiskin, B.K., Bobrov, E.G. (Eds.). *Flora U.S.S.R* 26, pp. 181-213. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dun, India & Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany.
- [29] Zernov, A.S. (1981). A new species of the genus *Tripleurospermum* Sch.Bip. section *Chlorocephala* Pobed. (Compositae) from the North-western from the Caucasus. *Byulleten Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirordy Otdel Biologicheskii*, 104(1), 68.
- [30] Barthlott, W. (1981). Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany*, 1(3), 345-355. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1981.tb00704.x>



Investigation of salep and salep containing products in view of food and pharmacy

Muhammed Mesud HÜRKUL^{*1}, Rahime Büşra ÇİFTÇİ¹, Ayşegül KÖROĞLU²
ORCID: 0000-0002-9241-2496; 0000-0001-8303-1643; 0000-0002-8450-1376

¹ Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, 06560 Ankara, Turkey

² Afyonkarahisar University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy, 03030 Afyonkarahisar, Turkey

Abstract

In this study, Salep and Salep products were evaluated in terms of food and pharmacy. For this purpose, investigated which plants are used as salep, the growth status of these plants in our country was examined and the pharmacological properties of salep were compiled with source data. Clinical studies on salep have shown that they are effective in the treatment of chronic constipation and obesity. In the experimental part of our study, 11 different salep samples in the market in Ankara were purchased, and examined organoleptic and anatomically. The anatomical properties of these samples were compared with the characteristic elements of the *Orchis anatolica* tubers collected from nature. Raphides are a characteristic anatomical features for natural salep samples. According to our results obtained from the microscopic study, it was observed that substances such as starch, carboxymethylcellulose (CMC), methylcellulose (MC) were added to the salep samples on the market.

Key words: Orchidaceae, Salep tubera, salep, anatomy

----- * -----

Salep ve salep içeren ürünlerin gıda ve eczacılık açısından incelenmesi

Özet

Bu çalışmada salep ve salep içeren ürünler gıda ve eczacılık açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla, salepin elde edildiği cins ve türler belirlenmiş, bu türlerin ülkemizdeki yetişme durumu incelenmiş ve salepin farmakolojik özellikleri kaynak verileriyle derlenmiştir. Salep üzerinde yapılan klinik çalışmalar, kronik kabızlık ve obezite tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın deneysel kısmında, Ankara piyasasında bulunan 11 farklı salep örneği satın alınıp, organoleptik ve anatomik olarak incelenmiştir. Bu numunelerin anatomik özellikleri doğadan topladığımız *Orchis anatolica* yumrularının karakteristik elemanları ile karşılaştırılmıştır. Doğal salep örneklerinde rafit, karakteristik bir anatomik özelliktir. Mikroskobik çalışma sonucu elde edilen bulgularımıza göre, piyasada bulunan salep numunelerine nişasta, karboksimetilselüloz (CMC), metilselüloz (MC) gibi maddelerin katıldığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Orchidaceae, Salep tubera, salep, anatomi

1. Giriş

Orchidaceae familyası, dünya çapında kaydedilen yaklaşık 26.570 tür ile bitkiler aleminin en büyük ve yaygın familyalarından biridir [1]. Bu bitkiler çok yıllık, ototrof ya da bazen heterotrof olup endotrop mantarlar ile simbiyotik yaşam süren otsu formlardır. Rizom sürünücü veya etli, lifli bir yapıya indirgenmiş ya da yumru benzeri köklere sahiptir. Yumrular silindirik, ovoid veya parçalı, 1-2 cm, çok sert, kirli sarı-bej renkli, üzeri pürüklüdür. Yapraklar bazal ya da gövdede bulunur, nadiren yaprak taşımaz. Çiçek durumu başak şeklinde, gövde ucunda bulunur. Çiçekler zigomorf, büyüklük ve renk bakımından çok çeşitlilik gösterirler. Çiçeklerin sayısı, sık veya aralıklı dizilmesi bitkinin teşhisinde kullanılabilecek önemli ayırt edici özelliklerdir [2,3,4]. Türkiye, Liliaceae ve Orchidaceae familyalarına ait geofit cins ve türler bakımından zengindir. Orchidaceae familyasına ait türler Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903122033000; Fax.: +903122131081; E-mail: huerkulmm@gmail.com

yetişebilmektedir. Salep bazı çok yıllık Orchidaceae türlerinin çift kök yumrularının soluk sarımsı, kaba ve sert kurutulmuş yumruların öğütülmesi ile elde edilir. Türkiye’de 5 cinsine ait (*Anacamptis* Rich., *Himantoglossum* Spreng., *Ophrys* L., *Orchis* L., *Serapias* L.) 28 orkide türü endemiktir [5]. Orkide türlerinin % 85’inden salep üretilebilmektedir [6]. Salep elde edilmesine uygun türler daha çok *Orchis*, *Anacamptis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Himantoglossum*, *Barlia* Parl. gibi ovoid gibi yumrulu olanlar ve *Dactylorhiza* Necker ex Nevski gibi parçalı yumrulu olanlardır. Son zamanlarda *Platanthera* Rich. türlerinden de bazı bölgelerde salep elde edildiği bilgisi mevcuttur [3,7]. Kastamonu yöresinde ise genellikle *Orchis mascula* L. ve *O. purpurea* Hudson türleri yetişmektedir [8]. Ticari salep olarak Muğla (*Orchis anatolica* Boiss., *O. italica* Poir., *O. tridentata* Scop., *O. simia* Lam., *O. pinetorum* Boiss. & Kotschy, *O. provincialis* var. *pauciflora* (Ten.) Batt., *O. sancta* L., *O. morio* L., *O. romana* Sebast., *Anacamptis pyramidalis* Rich., *Himantoglossum longibracteatum* (Rchb.f.) Schltr., *Serapias laxiflora* Rchb.f., *S. vomeracea* (Burm.f.) Briq., *Ophrys fuciflora* (F.W.Schmidt) Moench, *O. fusca* Link, *O. mammosa* Desf., *O. cornuta* ssp. *orientalis* Renz, *O. ferrum-equinum* Desf., *O. bombyliflora* Link, *O. lutea* var. *minor* (Tod.) Guss., *O. speculum* Link), Kahramanmaraş (*Dactylorhiza osmanica* (Klinge) P.F.Hunt & Summerh., *Orchis palustris* Jacq., *O. coriophora* L.) ve Kastamonu salebi en iyiler arasındadır [6,9]. Orkide yumrularının salep dışında değişik preparatlar halinde balgam söktürücü veya göğüs yumuşatıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir [3].

Bu çalışma, özellikle kış aylarında yoğun olarak tüketilen ve ülkemiz açısından ekonomik değere sahip olduğu gibi geleceği tehlike altında olan salebi drog (tıbbi değeri olan bitki kısmı) olarak incelenmek üzere tasarlanmıştır. Bu incelemede öncelikle droğun tanıtımı, tarihçesi, halk arasında geleneksel kullanımı, kimyasal bileşimi, ekonomik değeri, gıda ve tıbbi açıdan önemi yapılan bilimsel çalışmalar ışığında ayrı başlıklar halinde verilmiştir. Droğun genel tanıtımı ayrıntılı olarak incelendikten sonra ikinci olarak salep örneklerinde anatomik bir standardizasyonunu belirlemek amacıyla, Ankara piyasasında farklı yerlerden farklı şekillerde satın alınan örnekler, standart olarak kullanılan (Safranbolu ve Elmadağ) numunelerin anatomik özellikleriyle ve ayrıca gıda katkı maddesi olarak kullanıldığı bilinen metil selüloz ve karboksimetil selüloz ile karşılaştırılmıştır.

1.1. Salep tubera

Orkideler yöresel olarak, Arapça’dan dilimize geçen ve “tilki” anlamına gelen “salep” ya da “sahlep” olarak adlandırılmaktadır. “Salep tubera” eski eserlerde “Husyet-ül sa’leb” (tilki testisi) veya “Husyet-ül kelb” (köpek testisi) olarak adlandırılmıştır. Diğer dillerde de benzer bir durum vardır. İtalyanca’da “testicolo di cane”; eski İngilizce’de ise “foxstones” veya “dogstones” kelimeleri kullanılmıştır [3].

Ilıman kuşak veya karasal orkidelerin toprakaltı organları; yumru (tuber), kök ve rizom olarak farklılık göstermektedir. Yukarıda bahsi geçen cinslerin (*Dactylorhiza* dışında) iki yumrusu vardır. Bunlardan birisi diğerinden daha küçük, kahverengi renktedir. Bitkiyi beslediği için büzülmüş yapıdadır. Diğer yumru ise daha büyük, şişkin ve parlak görünümlüdür ve gelecek sene yeni bitkinin gelişmesini sağlayacaktır. Bu büyük yumruya kardeş yumru (hemşire yumru) denir. Salep üretimi için bu kardeş yumru bu bitkiler çiçekli haldeyken kazılıp topraktan çıkarılmakta, toplanıp salep elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Sert ve şeffaf görümlü olan yumrular 5-30 mm genişlik ve 10-40 mm uzunluğunda yumurta şeklindedir [3].

1.2. Türkiye’de Salep Elde Edilen Bölgeler

Kuzey Anadolu’da, Tokat ilinden Yozgat’ın Maden ilçesine kadar olan bölgelerde, ayrıca Kastamonu’da “Kastamonu Salebi”; Doğu Anadolu’da, Bitlis, Muş ve Van yörelerinde “Van salebi”; Güneydoğu Anadolu’da, Malatya, Adıyaman ve Kahramanmaraş civarında “Maraş salebi”; Anadolu’nun batısında, Kütahya-Bilecik civarında; Anadolu’nun güneyinde, “Silifke salebi”, “Muğla salebi” ve “Antalya salebi” elde edilmektedir [10].

1.3. Salep tubera’nın Tarihçesi

Salep, çok eski zamanlardan beri tıp kitaplarında yer alan bir drogtur. Orkidelerin yaprak ve çiçekleri hakkında bilgi veren Dioscorides’in “Materia Medica”sında büyük yumruyu yiyen kişinin erkek, küçük yumruyu yiyen kişinin ise kız çocuk sahibi olacağı söylenmiştir [3]. İbn-i Sina’nın “Kanun” adlı eserinin 2. cildinde “Satinuyun ve Buzidan” başlığı altında saleple ilgili bilgiler bulunmaktadır. İbn-i Sina, cinsel gücü artırıcı ve felç giderici olarak bu drogu tavsiye etmektedir. Eklem ve gut ağrılarını iyi geldiğini ve zehirlenmelerde yararlı olduğunu belirtmiştir. Şarapla içilirse veya salep yumruları elle öğüştürülürse cinsel coşkuyu arttırdığını belirtmiştir [11].

1.4. Salep tubera’nın Elde Edilişi

Eskiden değişik amaçlarla ilaç yapımında kullanılmışsa da, bu kullanımı terk edilen salep, günümüzde sadece gıda olarak değerlendirilmektedir [12]. Türkiye’de, salep özellikle Kahramanmaraş tipi dondurmada stabilize edici olarak kullanılır ve salep belirli nitelikleri için (örneğin, görece erime ve geliştirilmiş tat gecikme) vazgeçilmezdir [13]. Salep bitkisinin doğal şartlarda çimlenip gelişmesi yaklaşık olarak dört yıl sürmektedir. Doğada yapılan incelemeler

sonucunda bazı bitkilerin kümeler halinde geliştikleri gözlenmiş ve bunların kardeş yumrularla çoğaldığı tahmin edilerek daha detaylı gözlemler yapılmıştır [14,15].

Orkidelerin taban yaprakları çıkmaya başladığı ya da çiçeklenme olduğu zaman, salep toplayıcıları tarafından bitkinin etrafı kazılarak yumrular çıkarılarak yeni yumrular alınır. Toprakta çıkarılan yumrular bol su ile yıkanır. Temizlenen yumrular kaynar suyun içine daldırılır ve tekrar kaynama başlayınca kadar yumrular su içinde tutulur. Sonra sıcak su içerisinden çıkarılarak soğuk suya daldırılır. Soğuk sudan çıkarılan yumrular eleklerle yayılır ve tazyikli su ile yıkanır. Daha sonra betona serilerek, güneşte kurutulur [6].

Türkiye'nin tehlike altındaki ve nadir türlerini içeren Kırmızı kitaba göre, Orchidaceae familyasının bazı türleri, gelecekte yok olma tehlikesiyle karşı karşıya bulunduğu için yüksek risk sınıfında yer alır. Türkiye'de "Salep" in dış satımı 1974 yılından itibaren yasaklanmıştır, fakat farklı formlarda ihracatı hala devam etmektedir [15].

1.5. Salep tubera'nın Halk Arasında Kullanımı

Salep antik zamanlardan beri besin, keyif verici madde ve ilaç olarak kullanılmıştır ve orkidelerin yumru şeklindeki köklerinden üretilmiştir. Yumruların yapılan ilaç "mucilago salep" (salep mucusu) olarak tanımlanmakta ve ilacın her kullanımında taze olarak hazırlanması gerekmektedir. Aynı madde, özellikle diğer ilaçlar için de kıvam arttırıcı dolgu malzemesi olarak da kullanılmıştır [16].

Türklerin tarihinde 8. yüzyıl başında İslam'a dönüş başladığında, şarap ve kırmızı yasaklanınca bu alkollü içecekler yerine alkolsüz olan boza, üzüm şırası ve salep tercih edilir olmuştur. Yaz aylarında üzüm şırası tüketilirken boza ve sıcak salep kışın tercih edilen sıcak içecektir [17]. Sıcak salep, viskoz, sütlü bir içecektir. Genellikle evde hazırlanır ve özellikle kış aylarında tercih edilir. Salep tozu, süt ve şeker ile kaynatılarak sıcak bir içecek hazırlanır ve üstüne tarçın serpilerek servis edilir. Salep ayrıca geleneksel Kahramanmaraş tipi dondurmada ana bileşendir [18].

Güney Afrika ülkelerinde salebin yüksek miktarda kullanıldığı belirlenmiştir. Etsiz sucuk şeklinde olan 'chikanda' *Disa*, *Habenaria* ve *Satyrium* orkide yumrularından yapılmış geleneksel bir öğle yiyeceği olarak tüketilen, popüler Zambiya yemeğidir. Chikanda'nın yüksek popülaritesi, Zambiya'da orkide türlerinin ciddi bir şekilde doğada azalmasına neden olmuştur. Ardından, Tanzanya'dan Zambiya'ya kadar geniş bir yelpazede yenilebilir salep ihraç edilmiştir [19].

Salep orkideleri, ülser ve üst solunum yolları rahatsızlıklarında, ishal kesici, kuvvet verici ve gıda olarak ülkemizde kullanılmaktadır [15]. Orkideden yapılan terapötik preparatlar Geleneksel Çin Tıbbı ve geleneksel Hint Tıbbı'nda kullanılır. Hindistan'da *Habenaria edgeworthii* Hook.f. ex Collett orkidesi, tonik 'chyanprash' hazırlanmasında kullanılmaktadır. Hindistan'da halk arasında tonik, antibakteriyel, afrodisyak, antitümör, ateş düşürücü ve yara iyileştirici özellikleri yanı sıra, kür ve yardımcı madde ile tüberküloz, hazımsızlık, baş ağrısı, ateş, kırık kemiklerin iyileşmesinde, mide rahatsızlıklarında ve hatta yılan sokmasında kullanıldığı tespit edilmiştir [12,20,21].

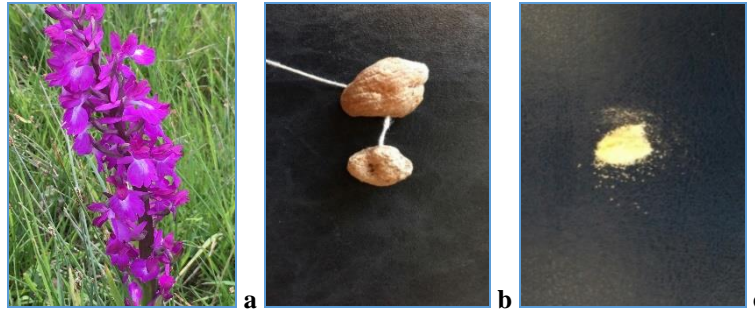
1.6. Salep tubera'nın Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Etkileri

Orkidelerde polisakaritler, alkaloid, glikozidler, fenolik bileşiklerin varlığı bilinmektedir [22]. Salep Türkiye'nin farklı bölgelerinde farklı yabancı Orchidaceae türlerinden üretilir, standart bir kimyasal bileşime sahip değildir [3,13,23]. Salep kaynaklı ürünlerin kalitesini, salebin kimyasal bileşimi ve özellikle glukomannan ve nişasta içeriği etkilemektedir [24]. "Türk Salep Çeşitleri Üzerine Araştırmalar" adlı çalışmada, salep türlerinin çiçek, yaprak ve yumru morfolojilerindeki farklılıkların yanı sıra, bunların; kimyasal içerikleri bakımından da farklı olduklarını ve yapılarında nişasta, şeker (glikoz ve fruktoz), azotlu maddeler ve glukomannan özelliğinde müsülaj taşıdıklarını belirtmişlerdir [23]. Salep, toz edilmiş halde ve çoğunlukla da nişasta ile katıştırılmış olarak satılmaktadır. Drogun mikroskopik karakteristik elementleri, iri müsülaj hücreleri ve iki tip, kısa ve uzun, ince rafitleridir. Mikroskopik incelemede şekli bozulmamış nişasta taneleri görülürse tozun taşış edildiği (katıştırıldığı) anlaşılır, çünkü salepte bulunan nişasta, drog hazırlanırken ısı işlem gördüğünden pelteleşmiştir [4,25].

Günümüzde glukomannan ilaç olarak düşünülmemekle birlikte, literatürde tanımlanan biyolojik etkileri nedeniyle biyoaktif bir polimer olarak kabul edilmiştir. Tip 2 diyabet geliştirilmiş sıçanlara, oral yoldan, glukomannan verilmesini takiben, serum glukoz seviyelerinde azalma belirlenmiştir. Bu etki, karbonhidrat absorpsiyonunun inhibisyonuna ve ayrıca yemek sonrası insülin salınımının düşmesine bağlanmıştır. Diğer taraftan kemirgenler üzerinde yürütülen bazı araştırmalar, glukomannanın tümör gelişimini inhibe edici özellik gösterdiğini öne sürmektedir. Ancak bu etkinin mekanizması detaylı olarak açıklanamamıştır [26]. Glukomannan yan etki göstermeksizin kronik kabızlık tedavisinde kullanılabilir [27]. *Orchis anatolica* Boiss.'nin yumrularının erkek sıçanlarda doğurganlığı arttırdığı, yapraklarının ise doğurganlığı azalttığı [28,29], *Orchis latifolia* L. içeren bir bitkisel preparat ile iki haftalık takviyenin seçilen genç erkeklerde dolaşımdaki testosteronu arttırabildiği tespit edilmiştir [30]. *O. mascula* L.'nin antikonsülvan ve antioksidan etkisinin olduğu [31] ve hipertansiyon tedavisinde etkili olduğu tespit edilmiştir [32]. Salep doğal dengeleyici madde olarak Türk tipi dondurmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı salep numunelerinin, farklı konsantrasyonlardaki viskozitelerinin sıcaklığa bağlı olduğu belirlenmiştir. Süt-salep-şeker ve su-salep-şeker karışımlarının viskoziteleri karşılaştırılmış, elde edilen verilere göre süt-salep-şeker karışımının çalışılan tüm konsantrasyonlarda ve sıcaklıklarda akışkanlığının zor olduğu anlaşılmıştır. Salep konsantrasyonunda sıcaklığın viskozite değişiminde daha etkili olduğu tespit edilmiştir [33].

2. Materyal ve yöntem

Çalışmada mikroskopik karakteristik elemanları belirlemek için salep yumrusu örnekleri Safranbolu'dan (1 Nisan 2017) kurutulmuş yumru şeklinde yerel bir dükkândan satın alınmıştır. Örnekler kavanoz içinde Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu'nda depolanmıştır (AEF 28903). Ayrıca Elmadağ (Ankara)'dan salep hazırlamak için toplanan sadece iki adet bitki herbarium örneği (ANK/EP-60625) hazırlamak ve yine mikroskopik özellikleri tayin etmek için doğadan toplanmıştır. Standart olarak kullanılmak üzere temin edilen her iki örnek de toz edilmiş ve standart numune olarak kullanılmıştır (Şekil 1). Çalışmamıza konu olan 11 farklı salep örneği Ankara piyasasından (yerel dükkân, market, aktar, pastane, kafe) "salep" adı ile paketli (kutu, poşet içinde) veya toz halde açık olarak satın alınmıştır (Tablo 1). Standart numune olarak kullanılacak olan salep örneklerinin morfolojik özellikleri tespit edilmiş ve fotoğrafları çekilmiştir (Panasonic DMC-FX33). Standart numunenin organoleptik kontrolünde, numune toz edilmiş ve genel görünüş, renk, koku, tat gibi karakterleri saptanmıştır. Anatomik incelemeler için satın alınan piyasa örneklerinden Sartur Çözeltisi (TFR) [34-36], Kloralhidrat Çözeltisi ve Distile su ile ayrı ayrı hazırlanan preparatlar, ışık mikroskopunda (Leica CME) incelenmiş ve mikrofotoğrafları çekilmiştir (Leica DM 4000B).



Şekil 1. a. *Orchis anatolica* (Elmadağ/Ankara), b. Salep tubera (Safranbolu), c. Toz edilmiş Salep tubera

Tablo 1. Çalışma sırasında materyal olarak kullanılan Salep tubera örneklerinin ve standartların temin edildiği yerler

Numune	Numune Kodu	Temin Edildiği Yer	Satılma Şekli
Standart	Std (1)	Safranbolu	İpe dizilmiş şekilde, kurutulmuş yumrular (AEF 28903)
Standart	Std (2)	Elmadağ	ANK/EP-60625
Numune 1	N1	Ankara, Aktar	Toz halde, açıkta satılan numune
Numune 2	N2	Ankara, Aktar	Toz halde, açıkta satılan numune
Numune 3	N3	Ankara, Aktar	Toz halde, açıkta satılan numune
Numune 4	N4	Ankara, Pastane	Tek kullanımlık poşet
Numune 5	N5	Ankara, Pastane	Paket halinde
Numune 6	N6	Ankara, Aktar	Toz halde, açıkta satılan numune
Numune 7	N7	Ankara, Yerel dükkân (Bahçelievler)	Toz halde, açıkta satılan numune
Numune 8	N8	Ankara, Kafe	Toz halde
Numune 9	N9	Ankara, Market	Paket halinde
Numune 10	N10	Ankara, Market	Paket halinde
Numune 11	N11	Ankara, Kafe	Tek kullanımlık poşet

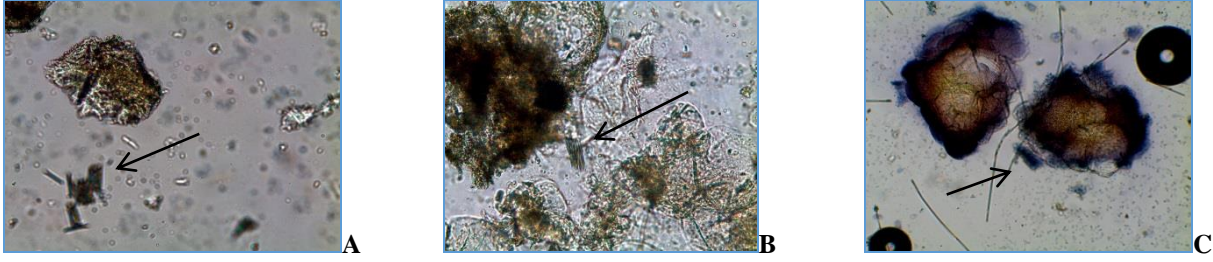
3. Bulgular

3.1. Salep tubera toz örneğinin organoleptik kontrolü

Standart toz drog heterojen, sarımsı-kahverengi, aromatik kokulu, kendine özgü lezzetli, sert, küçük kitleler halindedir (Şekil 1.c).

3.2. Salep tubera, karboksimetilselüloz (CMC) ve metilselüloz (MC) standart örneklerinin mikroskopik kontrolü

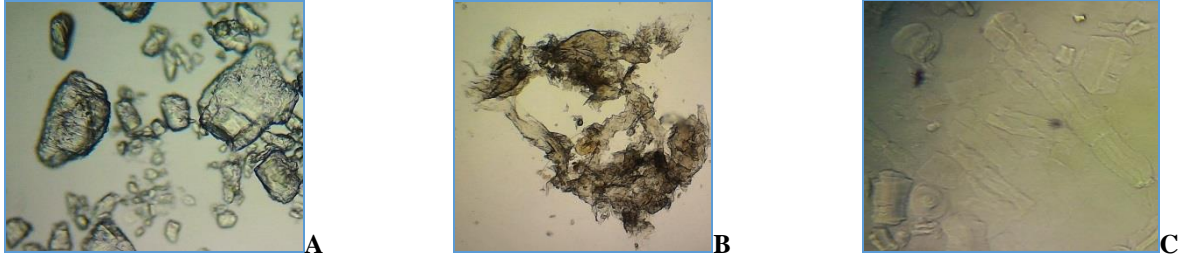
Standart olarak kullandığımız Salep tubera toz örnekleri (Safranbolu örneğinde pelteleşmiş nişasta ve rafit, Elmadağ örneğinde rafit) ile karboksimetilselüloz (CMC) ve metilselüloz (MC) distile su, Kloralhidrat ve Sartur çözeltileri kullanılarak incelenmiş, karakteristik görüntüleri belirlenmiş ve mikrofotoğrafları çekilmiştir. Piyasadan temin edilen 11 farklı örnek de üç farklı reaktif içinde incelenmiş ve bu örneklere ait mikrofotoğraflar verilmiştir (Şekil 2.-16.).



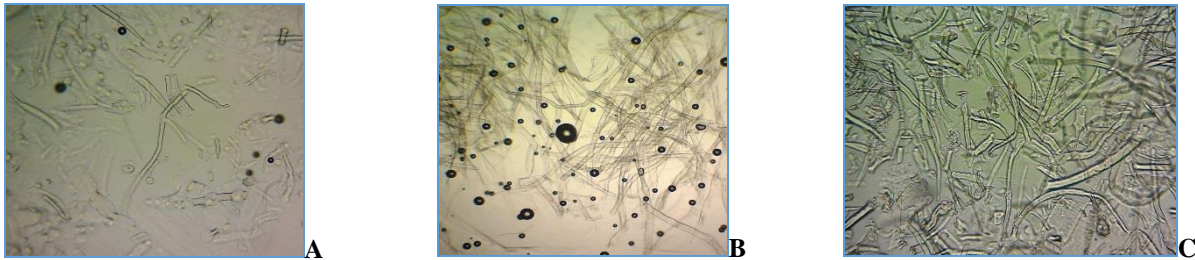
Şekil 2. Salep tubera standart numune (Safranbolu örneği). A. Distile su (rafitler), B. Kloralhidrat Çözeltisi (rafitler), C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta)



Şekil 3. Salep tubera standart numune (Elmadağ örneği). A. Distile su (rafitler), B. Kloralhidrat Çözeltisi (rafitler), C. Sartur Çözeltisi (rafitler)



Şekil 4. Karboksimetilselüloz (CMC). A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



Şekil 5. Metilselüloz (MC). A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi

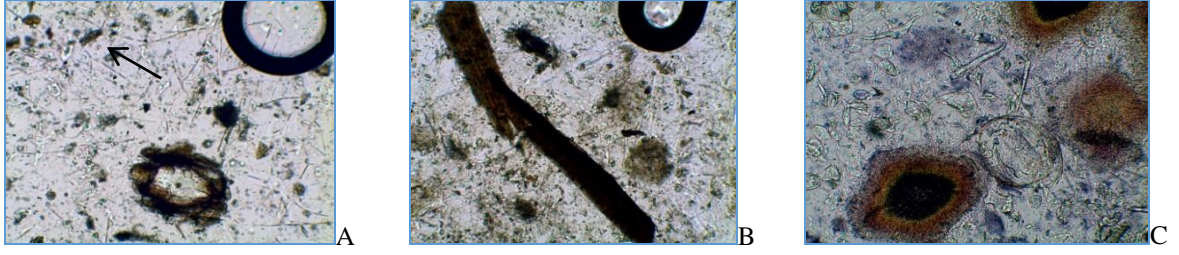
3.3. Piyasa örneklerinin incelenmesi

3.3.1. Organoleptik kontrol

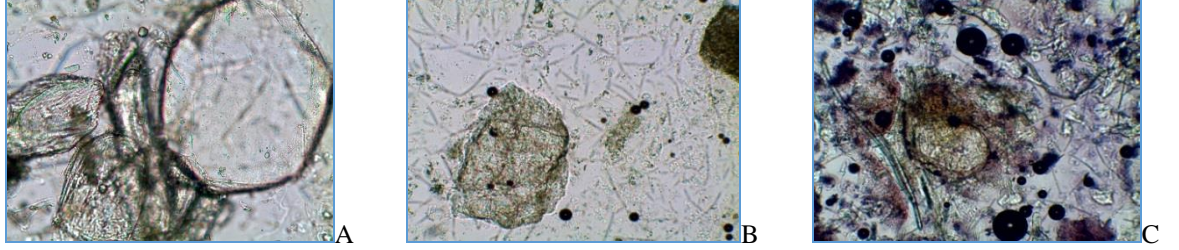
Ankara'nın farklı yerlerinden çeşitli şekillerde "salep" adı ile satılan örneklerin organoleptik incelenmesinde, N2 ve N8 örneklerinin homojen görünümüne, diğerlerinin ise heterojen bir görünüme sahip olduğu; N2, N6 ve N8'in beyaz renkli, diğerlerinin sarımsı-kahverengine sahip toz olduğu; N1, N2, N5, N6, N7 örnekleri dışında diğer örneklerin aromatik kokulu, kendine özgü lezzetli olduğu tespit edilmiştir.

3.3.2. Mikroskobik kontrol

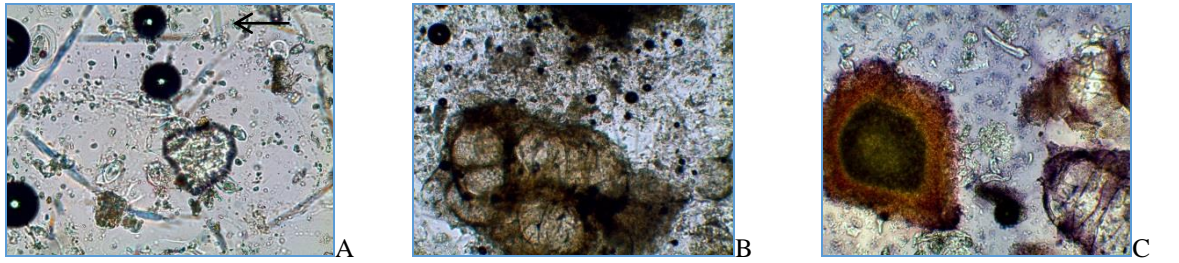
Aktarlardan ve marketlerden temin edilen çalışma materyalleri, distile su, Kloralhidrat ve Sartur çözeltileri kullanılarak incelenmiş, karakteristik özellikleri belirlenmiş ve mikrofotografı çekilerek görsel olarak verilmiştir (Şekil 6.-16.).



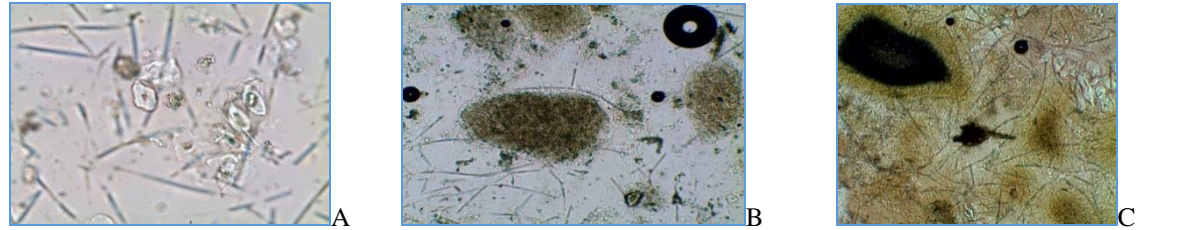
Şekil 6. Numune 1. A. Distile su (rafit), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta)



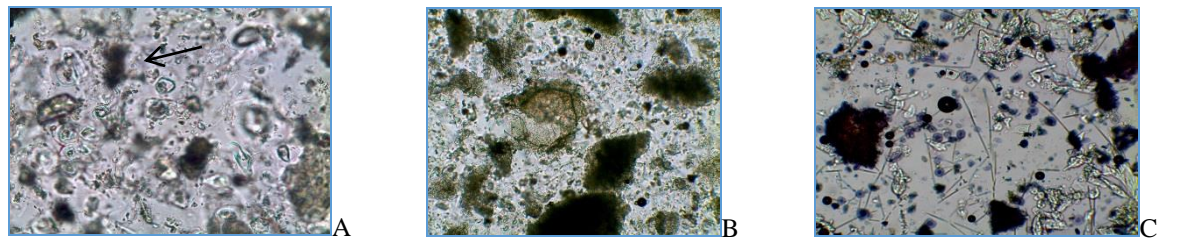
Şekil 7. Numune 2. A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



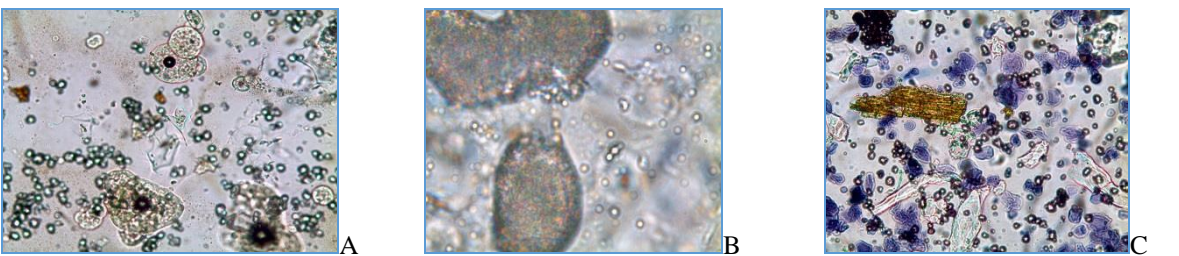
Şekil 8. Numune 3. A. Distile su (rafit), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta ve müsülaj hücresi)



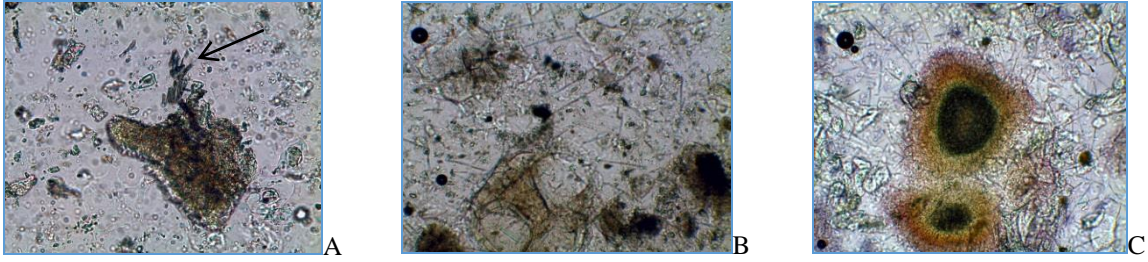
Şekil 9. Numune 4 A. Distile su (mısır nişastası), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



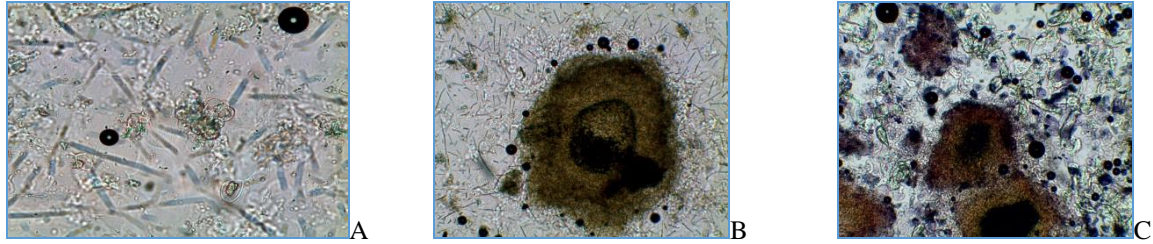
Şekil 10. Numune 5. A. Distile su, (rafit) B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta)



Şekil 11. Numune 6. A. Distile su (nişasta), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



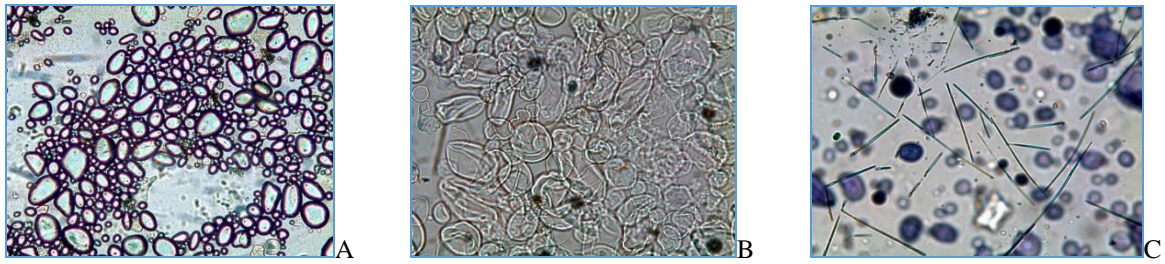
Şekil 12. Numune 7. A. Distile su (rafit), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta)



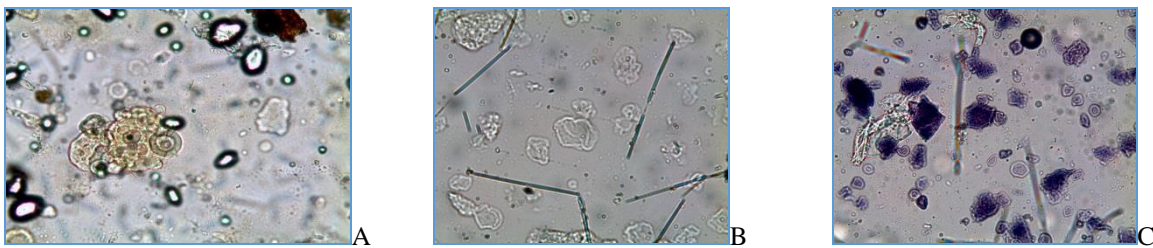
Şekil 13. Numune 8. A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi (pelteleşmiş nişasta)



Şekil 14. Numune 9. A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



Şekil 15. Numune 10. A. Distile su (patates nişastası), B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi



Şekil 16. Numune 11. A. Distile su, B. Kloralhidrat Çözeltisi, C. Sartur Çözeltisi

4. Sonuçlar ve tartışma

Bu çalışmada, Orchidaceae familyasının toprakta yetişen bazı türlerinden elde edilen ve yumruları drog olarak kullanılan Salep tubera hakkında öncelikle bilgi derlenmiş sonrasında ise piyasadan satın alınan salep örnekleri mikroskobik karakteristik elemanları açısından incelenmiştir. Bu amaçla, Ankara piyasasında farklı yerlerden ve farklı satış şekillerinde, 11 numune incelenmek üzere satın alınmıştır, ayrıca standart olarak kullanılmak üzere Safranbolu'dan ve Elmadağ (Ankara)'dan numune temin edilmiştir.

Salep droğu halk arasında geçmişten günümüze birçok farklı toplumda olduğu gibi ülkemizde de çok fazla tanınmakta ve kullanılmaktadır. Geleneksel bitki kullanımı bilgisine dayanan salep tüketimi, günümüzde özellikle kış

aylarında medyanın yoğun olarak gündeme getirmiş olduğu tıbbi bitki kullanımı konusunun yarattığı bir arz-talep ilişkisi sonucu daha da fazla ilgi görmektedir. Aynı zamanda geleneksel kullanımdan başlayıp klinik çalışmalarla da çeşitli etkileri bilimsel olarak kanıtlanmış olan salep [12,15-21,26-32], gıda olarak kullanımının yanı sıra tıbbi değeri açısından da yoğun ilgi görmektedir. Droğun bileşiminde glukomannan, müsilaaj, nişasta gibi daha çok karbonhidrat yapısında olmakla birlikte protein yapısında primer ve sekonder metabolitler yer almaktadır [22-24]. Bunlar arasında etkiden sorumlu olan bileşiğin genellikle glukomannan olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir [17]. Bu piyasa talebini yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olan doğal bitkilerden karşılamak pek de mümkün görülmemektedir. Çünkü bitkinin gelecek sene devamını sağlayacak olan kardeş yumruları drog olarak kullanılmak üzere toplanmakta ve türün devamlılığı tehlikeye girmektedir [15]. Drog yoğun olarak kullanılmasına rağmen birçok farklı cinse ait türden elde edildiği için Avrupa (2010) ve Türk Farmakopesi'nde (2017) monograf olarak yer almamaktadır. Bu bağlamda, yoğun piyasa talebinin nasıl karşılandığını belirlemek için mikroskobik karakterlerin belirlenmesi ve kaynağın tespit edilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada drog olarak kullanılan bitki kısmının bütün özellikleri kaynak verileriyle derlenmiş ve mikroskobik olarak karakterizasyonu tespit edilmeye çalışılmıştır.

İncelenen kaynaklara göre, Salep yumrularının sürekli ve düzensiz toplanması, bazı türlerde kritik düzeyde bir azalmaya neden olmaktadır. Ülkemizin tehlike altındaki ve nadir türlerini içeren Kırmızı kitaba göre, Orchidaceae familyasından bazı türlerin yüksek risk altında olduğu ve yakın gelecekte yok olma tehlikesiyle karşı karşıya bulunduğu kayıtlıdır. Ülkemizde 1974 yılından itibaren "Salep" dış satımı yasaklanmış olmasına rağmen farklı formlarda ihracatı hala devam etmektedir. Özellikle kırsal kesimlerde yoğun yumru toplama ve gelecek sene ürün olacak kardeş yumruların tahrip edilmesi, floramızdaki salep türlerinin ve popülasyonlarının azalmasına, bazı türlerin ise yok olmasına neden olmaktadır [15]. Bu çevresel zararın önlenmesi ve salebin bilinçli olarak tüketilebilmesi için orkidelerin kültürlenme çalışmalarının yapılması [37], kaçak toplanmanın önüne geçilmesi gerektiği, salep ürünlerinin üretiminin denetlenmesi, tıbbi olarak kullanılan salebin satışının bir eczacı tarafından yapılması gerektiği söylenebilir.

Salep Ortadoğu'ya özgü olmasına rağmen yaptığımız kaynak taramaları sonucunda salebin antik zamanlardan beri Çin, Hindistan, G. Afrika gibi farklı coğrafya ve kültürlerde de kullanıldığı görülmüştür [12,16,19-21]. Ülkemizde tarih boyunca salep kullanımı vardır [17]. Salep ülkemizde ülser ve üst solunum yolu rahatsızlıklarında, ishal kesici, afrodisyak ve kuvvet verici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca gıda katkı maddesi olarak da (geleneksel Kahramanmaraş tipi dondurma, muhallebi vb.) ülkemizde yaygın bir kullanım alanına sahiptir [15,18].

Salep (Salep tubera) ülkemizde daha çok toz edilmiş şekilde aktarlarda ve ticari paketler halinde marketlerde ve kafelerde satılmaktadır. Drog, özellikle kış aylarında soğuk algınlığına karşı ve öksürük kesici olarak önerilmektedir. Paketlenmeden satışı yapılan bu ürünlerin nişasta içeriği, ortamın neminin %15'i aştığı durumlarda dekstrinlere ve indirgen şekerlere parçalanabilir böylece nişasta yapısı bozulur [39]. Çalışma sırasında, piyasadan satın alınan örnekler, saklandığı kavanozdan, kavanoz içinde duran ve genellikle plastik olan bir kürekle alınıp naylon bir poşete doldurularak müşteriye sunulmaktadır. Bu satış şekli genel olarak olumsuz bir bulgu gibi görülmese de ürün etiketli bir ambalajda tüketiciyle buluşmalıdır. Ayrıca bitkisel droglarda naylon poşet, nem düzeyini etkilemesi ve olası etken madde-plastik etkileşmesi gibi nedenlerden dolayı ambalaj malzemesi olarak kullanılmamalıdır. N9, N10, N11 örnekleri ise ticari ambalaj formunda satılmaktadır. Bu örneklerin ambalajları üzerinde içindekiler, miktar, ürün yılı, paketleme tarihi, son tüketim tarihi, parti no., TS no., tipi, saklama koşulları ve üretici firmanın iletişim bilgileri yer almaktadır. Ancak bu üç örneğin bileşiminde salep bulunmamaktadır (Tablo 2). Tıbbi amaçla satışı yapılan droglarda, Sağlık Bakanlığı'nın denetlemeleriyle iyileşme olmakla beraber bu tıbbi amaçlı drogların belirli standartlara uygun bir biçimde bilgili ve bu konuda uzman kişiler tarafından satılması sağlanmalıdır. Satılan örneklerin satışa sunulma şekli ve ortam şartları, hijyenik açıdan olumsuzluk göstermekle beraber, anatomik çalışmalarımız sonucu bu örneklerde metilselüloz, karboksimetilselüloz ve çeşitli nişasta örnekleri ile katıştırma yapıldığı görülmüştür (Şekil 6.-16, Tablo 2).

Organoleptik olarak incelenen numunelerde renk, koku, görünüş ve tat farklılığı tespit edilmiştir. Kendi topladığımız örnekler üzerinde reaktif olarak Distile su, Kloralhidrat Çözeltisi ve Sartur Çözeltisi kullanılarak mikroskobik çalışmalar yapılmıştır. Standart numunede anatomik olarak belirlenmiş olan karakteristik elemanlar olan [4,25,38,40] müsilaaj hücresi, pelteleşmiş küme halinde nişasta ve rafitler aranmış ve bu karakteristik yapılar Safranbolu örneğinde mikroskobik olarak tespit edilip fotoğraflanmıştır. Ayrıca Elmadağ örneğinin yumrularından hazırlanan preparatlarda rafitler karakteristik olarak görülmüştür. Elmadağ örneğinin Sartur Çözeltisi ile incelenmesinde nişastaların pelteleşmediği için kümeler halinde olmadığı da tespit edilmiştir. Her iki standart numunenin incelenmesi sonucunda rafitlerin varlığı, kaynak [4,25,38,40] verileri ile de eşleştirilince salep droğu için önemli bir anatomik bulgu olarak belirlenmiştir. Mikroskobik çalışma sonucu piyasadan satın alınan N1, N3, N5 ve N7 kodlu örneklerde karakteristik rafit varlığı belirlenmiş ve görsel olarak verilmiştir; bu örneklerde (N1, N3 N5, N7) ayrıca Sartur Çözeltisi ile hazırlanan preparatta pelteleşmiş nişasta varlığı belirlenmiştir. N2, N4, N6, N8, N9, N10 ve N11 kodlu örneklerde ise rafite hiç rastlanmamıştır. N8 ve N9 örneklerinde rafit görülmemesine rağmen pelteleşmiş nişasta belirlenmiştir. N2 ve N6 numunelerinde karboksimetilselüloz (CMC), N6 örneğinde ayrıca CMC yanında tek hücreli yapıların varlığı görülmüştür. N3, N4, N8 N9 ve N11 numunelerinde metilselüloz (MC) varlığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra N4 ve N11 örneğinde mısır nişastası; N9 numunesinde ise pirinç nişastası katıştırıldığı (tağış edildiği) belirlenmiştir. N10 örneğinin ise doğrudan patates nişastası olduğu yapılan mikroskobik analiz sonucu tespit edilmiştir. N6 örneğinde her üç inceleme ortamında da küçük hücreler görülmüştür. Görülen bu hücreler Sartur Çözeltisi bileşiminde bulunan lügol ile boyanmamıştır. Lügol ile boyanmayan bu yapıların nişasta olmadığı, ancak mantar hücreleri olabileceğini

düşündürmüştür. Droğun satılma koşulları dikkate alındığında kontamine olma olasılığının yüksek olduğu ve bu hücrelerin bir fungusu (mantar) ait olabileceği söylenebilir (Şekil 6-16, Tablo 2).

Bu sonuçlara göre, Ankara piyasasından çeşitli satış alanlarından (Tablo 1) temin edilen, 11 farklı örneğin, üç farklı inceleme ortamında (distile su, Kloralhidrat Çözeltisi ve Sartur Çözeltisi), ışık mikroskobu ile yapılan mikroskobik analizi sonucunda: N1, N3 (MC içeriyor), N5 ve N7 örneklerinin katıştırma yapılmış olsa da salep droğu olduğu söylenebilir. N10 örneğinin ise doğrudan patates nişastasından oluşmaktadır. Salep adıyla satışı yapılan N1, N3, N5 ve N7 örnekleri dışında kalan diğer 7 numunenin, salep droğundan beklenen tıbbi yararları sağlamayıp sadece sıcak bir içecek olarak tüketilmekten başka faydasının olmayacağı çalışmanın çarpıcı sonucu olarak verilebilir.

Tablo 2. Piyasa örneklerinin tarafımızdan tespit edilen içerikleri

Numune	İçerik
Numune 1	Rafitler, Müsilaj hücreleri, Pelteleşmiş nişasta
Numune 2	Karboksietilselüloz (CMC)
Numune 3	Rafitler, Müsilaj hücreleri, Pelteleşmiş nişasta, Metilselüloz (MC)
Numune 4	Mısır nişastası, Metilselüloz (MC)
Numune 5	Rafitler, Müsilaj hücreleri, Pelteleşmiş nişasta
Numune 6	Tek hücreli muhtemelen bir mantar, Karbosimetilselüloz (CMC)
Numune 7	Rafitler, Müsilaj hücreleri, Pelteleşmiş nişasta
Numune 8	Metilselüloz (MC), Pelteleşmiş nişasta
Numune 9	Pirinç nişastası, Metilselüloz (MC), Pelteleşmiş nişasta
Numune 10	Patates nişastası
Numune 11	Mısır nişastası, Metilselüloz (MC)

Kaynaklar

- [1] Kew WCSP. (2011). World Checklist of Selected Plant Families. <https://wcsp.science.kew.org/home.do> (Erişim tarihi: 29.01.2019)
- [2] Renz, J., Taubenheim, G. (1984). Orchidaceae. In "Flora of Turkey and the East Aegean Islands." Davis, P.H., Mill, R., Tan, K. (eds.), volume 8. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [3] Sezik, E. (1984). *Orkidelerimiz (Türkiye'nin Orkideleri)*. Sandoz Kültür Yayınları No:6.
- [4] Tanker, N. (2002). *Farmasötik Botanik Uygulama*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ders Kitapları, No: 85.
- [5] Sandal Erzurumlu, G., Doran, İ. (2011). Türkiye'de Salep Orkideleri ve Salep Kültürü. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 15(1), 29-34.
- [6] Sezik, E. (2002). Turkish Orchids and Salep, *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44,151-157.
- [7] Çağlayan, K., Özavcı, A., Eskalen, A. (1998). Doğu Akdeniz Bölgesinde Yaygın Olarak Yetisen Bazı Salep Orkidelerinin Embriyo Kültürü Kullanılarak *In Vitro* Koşullarda Çoğaltılmaları. *Türk J Agric For*, 22, 187-191.
- [8] Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi (geçmişte ve bugün)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- [9] Sezik, E. (1969). Muğla Civarında Salep Elde Edilen Bitkilerin Mahallî İsimleri. *Istanbul J Pharm*, 5, 77-79.
- [10] Özhatay, N., Koyuncu M., Atay S., Byfield, A. (1997). *Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma*. İstanbul: Doğal Hayatı Koruma Derneği.
- [11] İbn-i Sina, (2009). *El-Kânûn Fi't-Tıbb*. İkinci Kitap. Çeviren: Kâhya, E., T.C. Başbakanlık Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Atatürk Kültür Merkezi Yayını: 378.
- [12] Dalar, A., Guo, Y., Esim, N., Bengu, A., Konczak, I. (2015). Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, *Dactylorhiza chuhensis* Renz&Taub.-In vitro investigations. *J. Herb. Med.*, 5(2), 77-85.
- [13] Tekinşen, O.C., Tekinşen, K.K. (2008). *Dondurma: Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü*. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi.
- [14] Arabacı, O., Tutar, M., Öğretmen, N., Yaşar, F., Tan, U. (2014, 23-25 Eylül). *Salep Orkidelerinde Farklı Kültürel Uygulamaların Etkisi*. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Yalova.
- [15] Arabacı, O., Tutar, M., Özcan, İ., Öğretmen, N., Yıldız, Ö. (2014, 23-25 Eylül). *Salep Orkidelerinden Orchis sancta L. Türünün Tarla Koşullarında Hasat Zamanının Belirlenmesi*. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Yalova.
- [16] Redwood, T. (1848). *Gray's Supplement to the Pharmacopoeia: Being a Concise But Comprehensive Dispensatory and Manual of Facts and Formulae, for the Chemist and Druggist and Medical Practitioner*. London: Longman and Company.
- [17] Tamer, C.E., Karaman, B., Copur, O.U. (2006). A traditional Turkish beverage: Salep. *Food Rev. Int.*, 22, 43-50.

- [18] Doğan, M., Kayacıer, A. (2004). Rheological properties of reconstituted hot salep beverage. *Int J Food Prop*, 3(3), 683-691.
- [19] Challe, C.F.X., Price, L.L. (2009). Endangered edible orchids and vulnerable gatherers in the context of HIV/AIDS in the Southern Highlands of Tanzania. *J Ethnobiol Ethnomed*, 5, 41.
- [20] Bulpitt, C., Li, Y., Bulpitt, P., Wang, J. (2007). The use of orchids in Chinese medicine. *JRSM*, 100(12), 558-563.
- [21] Singh, A., Duggal, S. (2009). Medicinal orchids: An overview. *Ethnobotanical Leaflets*, 13, 351-363.
- [22] Popova, E., Kimb, H.H., Saxenaa, P.K., Engelmann, F., Pritchard, H.W. (2015). Frozen beauty: The cryobiotechnology of orchid diversity. *Biotechnol Adv*, 34(4), 380-403.
- [23] Baytop, T., Sezik, E. (1968). Türk salep çeşitleri üzerinde araştırmalar. *Istanbul J Pharm*, 4, 61-68.
- [24] Farhoosh, R., Riazi, A. (2007). A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature. *Food Hydrocolloids*, 21, 660-666.
- [25] Baytop, A. (1975). *Bitkisel Droğların Anatomik Yapısı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- [26] Khouri, N.A., Daradka, H.M., Alkofahi, A.S. (2014). Androgenic mediated effects of dried *Orchis anatolica* plant root bulbs on male rats' reproductive system. *Comparative Clinical Pathology*, 23(3), 735-743.
- [27] Moran, R.G., VonSchulze, A.T., Bloomer, R.J. (2016). Impact of an herbal dietary supplement containing *Spilanthes acmella* and *Orchis latifolia* on testosterone in young men. *Journal of Biology and Life Science*, 8(1), 28-41.
- [28] Alonso-Sande, M., Teijeiro-Osorio, D., Remuñán-López, C., Alonso, M.J. (2009). Glucomanan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes. *Eur J Pharm Biopharm*, 72, 453-462.
- [29] Marzio, L., Del Bianco, R., Donne, M.D., Pieramico, O., Cuccurullo, F. (1989). Mouth-to-cecum transit time in patients affected by chronic constipation: effect of glucomanan. *Am J Gastroenterol*, 84(8), 888-891.
- [30] Nawasreh, M.M., Tahtamouni, L.H. (2017). The effect of *Orchis anatolica* leaves on reproductive system-An *in vivo* study. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 6(2), 63-66.
- [31] Pahuja, M., Mehla, J., Kumar Gupta, Y. (2012). Anticonvulsant and antioxidative activity of hydroalcoholic extract of tuber of *Orchis mascula* in pentylenetetrazole and maximal electroshock induced seizures in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(1), 23-27.
- [32] Aziz, N., Mehmood, M.H., Siddiqi, H.S., Mandukhail, S.U.R., Sadiq, F., Maan, W., Gilani, A.H. (2009). Antihypertensive, antidyslipidemic and endothelial modulating activities of *Orchis mascula*. *Hypertension Research*, 32(11), 997-1003.
- [33] Kaya, S., Tekin, A.R. (2001). The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. *J Food Eng.*, 47, 59-62.
- [34] Çelebioğlu, S., Baytop, T. (1949). A new reagent for microscopical investigation of plant. *Publication of the Instute of Pharmacognosy*, 10(19), 301.
- [35] TF, (2017). *Türk Farmakopesi, Genel Monograflar I*. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı.
- [36] TF, (2018). *Türk Farmakopesi, Genel Monograflar I*. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı.
- [37] Önal, K. (1999). Ege Bölgesi'nde doğal yayılış gösteren Orchidaceae familyasına ait bazı türlerin *in Vitro* koşullarda üretimleri üzerinde araştırmalar. *Turk J Agric For.*, 23(5):1057-1064.
- [38] Yazgan, M., Uygunlar, S., Demiray, H., Ay, G. (1986). *Tıbbi Bitkiler Anatomisi Uygulama Kılavuzu*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No.: 117.
- [39] Dizlek, H. (2012). Depolama sırasında tahıllarda meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikler. *JFST*, 12, 49-57.
- [40] İşcan, G., Köse, Y.B., Demirci, F. (2019). *Bitkisel Droğların Makroskopik ve Mikroskopik Özellikleri*. Antalya Eczacı Odası Akademisi Yayınları.



The effect of DNase I on free DNAs and its relationship with metastasis: A preliminary results

Aylin DAL ULUTAŞ¹, Didem TURGUT COŞAN^{*1,2}
ORCID: 0000-0002-3382-9451; 0000-0002-8488-6405

¹ Eskişehir Osmangazi University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biotechnology and Biosafety, Eskişehir, Turkey

² Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Eskişehir, Turkey

Abstract

In breast cancer, p53 is generally mutant and plays an important role in the development of metastasis, including bone metastasis. However, mutations are not always responsible for regulation disorders in cancer-related genes. Epigenetic changes such as hyper-methylation-related gene silencing errors and chromatin remodeling in CpG islands contribute to the development of cancer and metastasis. Free DNAs play an important role in cancer and metastasis formation. Studies show that DNA fragment levels are low in normal conditions and an increase in malignancy. In our study, invasive breast cancer cells MDA-MB-231 and hFOB 1.19 cells representing bone tissue, which is one of the most metastasized tissues of breast cancer, were cultured in the same environment (co-culture). In both cells, the presence of hypermethylation in the mutant p53 exon 8 region and APC1A, APC1B, and RASSF1 genes in MDA-MB-231 cells was observed. Appropriate primer sequences were selected for p53 exon8 amplifications and APC1A, APC1B, and RASSF1A methylation analysis. After PCR treatment applied for mutant p53 exon8 determinations, the products were subjected to electrophoresis in a 30% homogeneous polyacrylamide gel. Methylation Specific PCR (MSP) was performed by the APC1A, APC1B, and RASSF1A gene regions. PCR products were analyzed by conducting 2% agarose gel electrophoresis. The results were also evaluated in environments where DNase I was added. The results of our study provide researchers with a model that shows that some gene and structural features of tumor cells can be transported to normal cells via free DNA. Also, it is aimed to reveal the effect of DNase I in providing or preventing this transport.

Key words: cell-free DNA, breast cancer cell, metastasis, bone cell, DNase I k

----- * -----

DNase I 'in serbest DNAlar üzerine etkisi ve metastaz ile ilişkisi: İlk sonuçlar

Özet

Meme kanserinde p53 genellikle mutanttır ve kemik metastazı da dahil olmak üzere metastaz gelişiminde önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, mutasyonlar kansere bağlı genlerdeki regülasyon bozukluklarından her zaman sorumlu değildir. CpG adalarında hipermetilasyonla ilişkili gen susturma hataları ve kromatin yeniden modellenmesi gibi epigenetik değişiklikler, kanser ve metastaz gelişimine katkıda bulunur. Serbest DNA'lar kanser ve metastaz oluşumunda önemli bir rol oynar. Çalışmalar, DNA fragment seviyelerinin normal koşullarda düşük olduğunu ve malignitede arttığını göstermektedir. Çalışmamızda, meme kanserinin metastaz yapma eğiminde olduğu dokularından biri olan kemik dokusunu temsil eden hFOB 1.19 hücreleri ile invaziv meme kanser hücreleri MDA-MB-231 aynı ortamda kültüre edilmiştir (ko-kültür). Her iki hücrede de, mutant p53 ekson 8 bölgesinde hipermetilasyon ve MDA-MB-231 hücrelerinde APC1A, APC1B ve RASSF1 genlerinin varlığı gözlemlendi. P53 ekson8 amplifikasyonları ve APC1A, APC1B ve RASSF1A metilasyon analizi için uygun primer sekansları seçildi. Mutant p53 ekson8 saptamaları için PCR işleminden sonra, ürünler %30 homojen bir poliakrilamid jel içinde elektroforeze tabi tutuldu. APC1A, APC1B ve RASSF1A gen bölgelerinde, Metilasyon Spesifik PCR (MSP) işlemi gerçekleştirildi. PCR ürünleri %2

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905333662680; Fax.: +90222393772; E-mail: dcosan@gmail.com

agaroz jel elektroforezi yapılarak analiz edildi. Sonuçlar DNase I'in eklendiği ortamlarda da değerlendirildi. Çalışmamız araştırmacılara, tümör hücrelerinin bazı genlerinin ve yapısal özelliklerinin, serbest DNA yoluyla normal hücrelere taşınabileceğini gösteren bir model sunmaktadır. Ayrıca, DNase I'in bu taşınmayı sağlama veya önlemedeki etkisini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: cell-free DNA, breast cancer cell, metastasis, bone cell, DNase I

1. Introduction

It has been known for a long time that tumor cells move through the body and form metastases. Subsequent studies have led to the suggestion that this metastasis could be via free DNA released from tumor cells into the blood. Free DNAs, which are DNA fragments released into the bloodstream as a result of cell apoptosis, necrosis, or active release of living cells, can be released from cancerous cells into plasma and serum. These DNAs, which were first determined in 1948, have been shown in various studies in which horizontal gene transfer takes place by integrating some cells into the genome [1]. These data were obtained in 1982 by Pulciani et al. it proves the view that "dominant oncogenes present in tumor cells can be transferred to normal cells" [2]. These studies led to the view that "metastasis can be realized by transfection of sensitive cells localized in the target organ with free DNA containing the dominant gene belonging to the primary tumor". With the discovery that free DNA can reflect invasive and prognostic features in cancer, laboratory studies on its applicability in the clinic have begun. Studies show that DNA fragment levels are low in normal conditions and an increase in malignancy [1]. These studies reveal the importance of free DNA in cancer and metastasis formation.

Studies determining tumor-specific DNA exchanges between primary tumor and blood in breast cancer patients have focused on oncogene and tumor suppressor gene mutations, methylation states, and microsatellite changes [1,3]. Point mutations or chromosome integrity changes occur in various regions of the tumor cell's genome. These changes may affect proto-oncogenes, tumor suppressor genes, and metastasis-related genes such as HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-Hypoxia-Inducible Factor-1) [1,2].

In primary tumor, mostly p53 gene exon 5-8 mutations occur and in many cases, the same mutations have been identified in cell-free DNA in plasma parallel to tumor tissue [4,5]. In breast cancer development, the p53 gene is usually mutant and plays an important role in many stages of metastasis development [6]. Mutant p53 oncoprotein activates or blocks downstream target genes, causing DNA damage and various oncogene activations in cells. According to the International Agency for Research on Cancer (IARC) data, 70% of p53 missense mutations cause breast cancer development [7]. p53 plays a very important role in the development of most metastases, including bone metastasis [8,9].

Regulation disorders in cancer-related genes do not always result in mutation. Epigenetic changes such as hyper-methylation-related gene silencing errors and chromatin remodeling in CpG islands also contribute to the development of metastasis [10,11]. DNA methylation causes gene silencing, causing the gene to be inactivated at the transcriptional level [11,12]. In normal cells, CpG dinucleotides in repeat sequences are methylated, while CpG islets in the promoter regions of 50% of genes are un-methylated. In cancer cells, with diffuse hypo-methylation in the genome, hyper-methylation is observed in CpG islets in the promoter regions. Promotor region hypermethylation causes silencing of the subsequent gene, which is especially important in the inactivation of tumor suppressor genes [11,12]. Studies have shown that RASSF1A and APC are methylated in the plasma and serum of primary or metastatic breast cancer patients [11]. Because of the high rate of promoter hyper-methylation in RASSF1A and APC genes in breast cancer, it has been suggested that these genes can be used as an epidemiological biomarker in individuals at risk for breast cancer. The most common hypermethylated gene region in human cancers is RASSF1A, and the CpG islands are highly hyper-methylated in breast cancer patients [12].

The effects of free DNAs on metastasis in vitro conditions and the role of DNase I have been investigated in various studies. The effect of DNase I, which plays an important role in the nucleic acid metabolism in the blood with the determination of oncogenic free DNA, has been a matter of curiosity. Studies on the anti-tumoral effect of DNase I started from the 1960s and continue until today [13]. DNase I's are a large family of endonuclease enzymes that break down the phosphodiester bonds of double chain DNA between pyrimidine bases [14]. Generally, it is thought that the free DNAs in the plasma are cut by DNases [3,15]. It is interpreted that the reason why cancer patients have higher levels of free DNA in the plasma of healthy individuals may be circular DNase inhibitors in some sources and low DNase levels in some sources [15,16]. It is reported that DNase I activity is seen more frequently in regions where methylation is repeated [17]. Previous studies suggest that free DNA released from tumor cells into the blood may form metastases. There are several studies about the role of DNase I in the development of metastasis due to its role in free DNA breakdown [12]. MDA-MB-231 cells have been shown in previous studies to be sensitive to DNase I [15].

In this study, it is aimed to determine the transfer of free DNA fragments released from MDA-MB-231 cells to hFOB cells in the co-culture medium and to determine the effect of DNase I on this transfer. In our study, MDA-MB-231, which represents invasive breast cancer cells, and hFOB 1.19 cells, which represent bone tissue, one of the tissues where breast cancer metastasizes at the highest rate, were kept in the same environment (co-culture). Thus, we predicted

that p53 exon8 and methylated/un-methylated gene regions specific for MDA-MB-231 cells can be detected in hFOB 1.19 cells. Previous studies have shown that DNase I affects oncogenic free DNAs released from MDA-MB-231 cells. For this reason, we added DNase I to the culture medium and thus evaluated the results from a different perspective. We did not know which of the two possible results would be in the presence of DNase I. The first possibility is to increase DNA transfer to hFOB 1.19 cells by causing more oncogenic free DNA released to the environment due to the sensitivity of MDA-MB-231 cells to DNase I. The second possibility is that the free DNA released from MDA-MB-231 cells was not transferred to hFOB 1.19 cells since it was cleaved with DNase I in the medium. You can find the results and comments in the following lines of the article.

2. Materials and methods

Human breast cancer cells MDA-MB-231 and human osteoblast cells hFOB 1.19 were obtained from ATCC (Washington D.C., USA). The cells were seeded into T-25 and T-75 cm² flask (Greiner, Cellstar, Germany) using Dulbecco's Modified Eagle's Medium-F12, supplemented with %10 Fetal Bovin Serum (FBS; Gibco, UK) in 5% CO₂ at 34,5°C. The cells were co-cultured with MDA-MB-231 on the plate base and hFOB 1.19 cells in the inserts. The cells in the co-culture medium were administered DNase I at a concentration of 0.1 mg/ml for 72 hours. Cells were removed from the flask base with trypsin after 72 hours of incubation, and DNAs were isolated from these cells using the Thermo Scientific Phusion Human Specimen Direct PCR kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Following the kit procedure, 20 µl Dilution Buffer and 0.5 µl DNARElease Additive were added to the tubes. After vortexing, it was incubated for 2-5 minutes at room temperature. Samples were incubated at room temperature for 2-5 minutes after the vortex step. Then, incubation was continued at 98°C for 2 minutes. 20 µl of the PCR mixture was created by taking 0.5 µl of the supernatant. Following the kit protocol, 10 µl 2x Phusion Human Specimen PCR Buffer, 0.4 µl Universal Control Primer, 0.4 µl Phusion Human Specimen DNA Polymerase, 0.5 µl sample and enough distilled water was added to complete the total volume to 20 µl. The PCR parameters were 98°C for 1 second, 72°C for 1 minute, 72°C for 15 seconds for 40 cycles followed by a final elongation at 72°C for 5 min. The concentrations of the DNA samples obtained were determined on the Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer device and stored at -20°C until use. To perform methylation analysis, bisulfite conversion was performed in the samples. EZ DNA Methylation-Gold™ Kit was used for this application. Primer sequences were selected for the p53 exon8 (E-8) and the methylation analysis of APC1A, APC1B, and RASSF1A gene regions (methylated and un-methylated) (Table 1, Table 2, Table 3).

Table 1. Primer sequences for p53 exon 8 amplification

p53	Forward Primer Dizisi	Reverse Primer Dizisi
E-8	5'-GGGACAGGTAGGACCTGATTTTCCTT-3'	5'-ATCTGAAGGCATAACTGCACCCTTGG-3'

Table 2. Methylated and un-methylated primer sequences for the APC1A and APC1B genes

APC	Forward Primer Dizisi	Reverse Primer Dizisi
1A-M	5'-TATTGCGGAGTGCGGGTC-3'	5'-TCGACGAACCTCCCGACGA-3'
1A-UM	5'-GTGTTTTATTGTGGAGTGTGGGTT-3'	5'-CCAATCAACAAACTCCCAACAA-3'
1B-M	5'-TAGAATAGCGAACGAGTGTTC-3'	5'-TCCGACGACCACACCCCG-3'
1B-UM	5'-GATAGAATAGTGAATGAGTGTTC-3'	5'-CTTCCAACAACCACACCCCA-3'

1A-M: APC1A Methylated gene region; **1A-UM:** APC1A Un-methylated gene region; **1B-M:** APC1B Methylated gene region; **1B-UM:** APC1B Un-methylated gene region.

Table 3. Methylated and un-methylated primer sequences for the RASSF1A gene

RASSF1	Forward Primer Dizisi	Reverse Primer Dizisi
M	5'-CGAGAGCGCGTTTAGTTTCGTT-3'	5'-CGATTAAACCCGTAACCTTCGCTAA-3'
UM	5'-GGGGGTTTTGTGAGAGTGTGTTT-3'	5'-CCCAATTAAACCCATACTTCACTAA-3'

M: RASSF1A Methylated gene region; **UM:** RASSF1A Un-methylated gene region

For determination of p53 exon 8, 25 µl PCR mix was prepared using 12.5 µl One Taq® Quick-Load 2x Master Mix (BioLabs, UK), 2 µl forward primer, 2 µl reverse primer, 2 µl DNA sample and sufficient amount of distilled water. PCR was performed at 94°C for 1 minute, 68°C for 1 minute, 70°C for 1 minute, 40 cycles. After PCR, 30% homogeneous polyacrylamide gel was prepared and electrophoresis was performed at +4°C.

Methylation Specific PCR (MSP) was performed following the APC1A, APC1B, and RASSF1A gene regions. Using appropriate primers, 12.5 µl One Taq® Quick-Load 2x Master Mix, 2 µl forward primer, 2 µl reverse primer, 2 µl bi-sulfide converted DNA sample and 25 µl MSP mixture were prepared using a sufficient amount of water. Then,

the MSP procedure was performed according to each primer. For APC1A and APC1B; 95 cycles of 15 seconds, 60°C 45 seconds, 72°C 30 seconds, 35 cycles, RASSF1A 95°C 1 minute, 56°C 1 minute, 72°C 1 minute 40 cycles of PCR were applied. The PCR products obtained were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis method..

3. Results

The presence of mutant p53 exon 8 region, which is absent in normal cells, was detected in hFOB 1.19 normal osteoblast cells co-cultured with breast cancer cells. It was observed that APC1A, APC1B, and RASSF1 gene regions were hyper-methylated in MDA-MB-231 cells, and APC1A, APC1B, and RASSF1 gene regions were un-methylated in hFOB 1.19 osteoblast cells. In our study, it was found that these normally un-methylated regions in hFOB 1.19 osteoblast cells were methylated in co-culture. In our study, all these results were also investigated after DNase I added to the co-culture medium. It was observed that the mutant p53 exon 8 region was not found in hFOB 1.19 osteoblast cells in the environment of DNase I. It was also determined that hyper-methylated regions seen in co-culture medium in hFOB cells were not seen after DNase I administration (**Figure 1**).

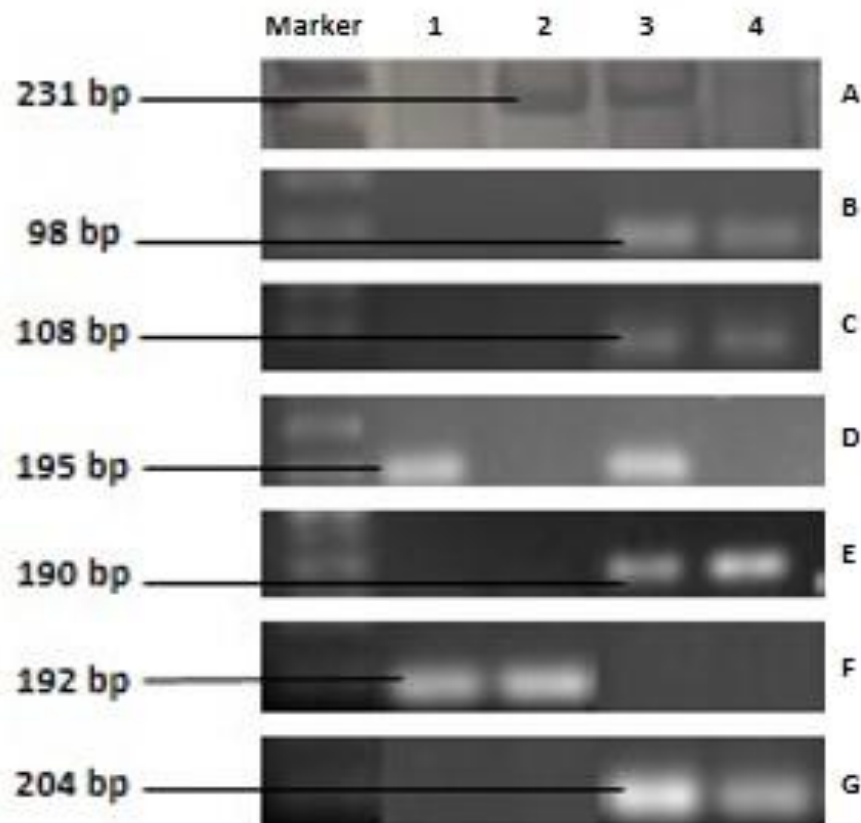


Figure 1. For P53-exon 8; hFOB1.19 cells (well 1), MDA-MB-231 cells (well 2), hFOB1.19 cells in co-culture (well 3), hFOB1.19 cells treated with DNase I in co-culture (well 4) (A), for APC1A-methylated region; hFOB1.19 cells (well 1), hFOB1.19 cells administered DNase in co-culture (well 2), MDA-MB-231 cells (well 3), hFOB1.19 cells in co-culture (well 4) (B), for APC1A- un-methylated region; MDA-MB-231 cells (well 1), MDA-MB-231 cells applied DNase I in co-culture (well 2), hFOB1.19 cells in co-culture (well 3), hFOB1.19 cells administered DNase I in co-culture (well 4) (C), for APC1B-methylated region; MDA-MB-231 cells (well 1), hFOB1.19 cells (well 2), hFOB1.19 cells in co-culture (well 3), hFOB1.19 cells applied DNase I in co-culture (well 4) (D), for APC1B- un-methylated; MDA-MB-231 cells (1), MDA-MB-231 cells treated with DNase I in co-culture (well 2), hFOB1.19 cells (well 3), hFOB1.19 cells treated with DNase I in co-culture (well 4) (E), for RASSF1 methylated region; MDA-MB-231 cells (well 1), hFOB1.19 cells in co-culture (well 2), hFOB1.19 cells (well 3), hFOB1.19 cells treated with DNase I in co-culture (well 4) (F), for RASSF1 un-methylated region; MDA-MB-231 cells (1), MDA-MB-231 cells (well 2) treated with DNase in co-culture, hFOB1.19 cells (well 3) in co-culture, hFOB1.19 cells treated with DNase in co-culture (well 4) (G).

4. Conclusions and discussion

Mutant p53 is a very important oncogene in the development of breast cancer and in the metastasis of many cancers, including bone metastasis, and this mutation can develop as a genetic or spontaneous [4,5,7-9]. Osteoblast differentiation is also regulated by the p53 signal pathway [16]. In our study, MDA-MB-231 cells, which are mutant and invasive breast cancer cells in terms of the p53 gene, and hFOB 1.19, normal osteoblast cells, were co-cultured. MDA-MB-231 cells used in our study have p53 exon 8 AGA-> AAA (Arg (R) -Lys (K)) missense mutation [11]. In our study, it was found that the p53 exon 8 (mutant) gene not found in hFOB 1.19 cells was also found in hFOB 1.19 cells co-cultured with MDA-MB-231 cells. This suggests that this can be achieved through oncogenic free DNA fragments of tumor cells. Free DNAs play an important role in cancer formation [18]. The effects of free DNAs on metastasis in vitro conditions and the role of DNase I have been investigated in various studies [1,17]. Although there are studies in the current literature showing its effect on methylation with DNase I activity, there is no research yet showing whether it has effects in terms of gene mutations.

In our study, the cancer cell-specific p53 exon 8 (mutant) gene was found in hFOB cells co-cultured with MDA-MB-231 cells in the environment without DNase I. It suggests that these tumor specific regions may have been transported to hFOB cells via oncogenic free DNA fragments. It was observed that there was no p53 exon 8 (mutant) gene in hFOB 1.19 cells co-cultured with MDA-MB-231 cells in the environment with DNase I. Therefore, it was concluded that DNase I has the potential to prevent this transition. In mammalian cells, the epigenetic system forms DNA methylation, histone modification, and non-coding RNAs. Studies show that gene silencing through methylation, which is one of the most important mechanisms of epigenetic control, can be a biological biomarker in cancer [19]. Jeronimo et al. conducted a methylation analysis of 23 gene regions in primary tumor tissue. It is suggested that these genes can be separated from invasive carcinoma and fibroadenoma due to the absence of hyper-methylation in normal tissue [20]. In many studies, it has been determined that APC and RASSF1A gene methylation play an important role in the development of breast cancer. Methylation gene pattern studies show that methylation can be used as an effective biomarker in cancer cells because normal cells contain non-methylated gene regions, cancer cells contain methylated gene regions. Swellam et al. in their study, they determined that methylated APC was higher in metastatic breast cancer patients than in benign breast cancer patients. It was also stated in the study that there was no hyper-methylated APC in healthy controls. Therefore, it has been stated that among the serum-based molecular markers, APC is very important in the early diagnosis of breast cancer [21]. Many studies show that the RASSF1A gene has low methylation levels in healthy individuals, and is hyper-methylated in breast cancer patients [8,11, 22-26]. Fackler et al. reported that tumor tissue has higher RASSF1A promoter methylation patterns than healthy tissue, as well as methylated genes in normal tissue around the tumor [27]. Also, it has been suggested that circular hyper-methylated RASSF1A in serum detected in metastatic breast cancer patients is associated with poor prognosis and maybe a very important prognostic biomarker [22, 27-28]. Another study in breast cancer patients found that RASSF1A and APC methylations were significantly higher than controls. It has been proposed that hyper-methylation seen in the promoter of these genes can also be used as an epidemiological biomarker in individuals at risk for breast cancer [12]. Another study in breast cancer patients found that RASSF1A and APC methylations were significantly higher than controls. It has been proposed that hyper-methylation seen in the promoter of these genes can also be used as an epidemiological biomarker in individuals at risk for breast cancer [12].

It has been previously determined that MDA-MB-231 cells are sensitive to DNase I [19]. Following this reported literature information, it was observed in our study that the viability of DNase I sensitive MDA-MB-231 cells decreased in the environment containing DNase I. In our study, in addition to evaluations for the p53 mutant gene, it was planned to demonstrate the methylation status of APC1A, APC1B, and RASSF1A genes in hFOB 1.19 cells cultured with MDA-MB-231 cells.

Accordingly, it was found that these genes, which are methylated in MDA-MB-231 cells, are not seen in the hFOB 1.19 cells cultured alone, but in the methylated state in the co-cultured hFOB 1.19 cells. There are studies in the literature to reveal the effect of DNase I in cancer [29, 30]. In a study evaluating the DNase I activity in the methylated and non-methylated gene regions, it was determined that the DNase I cut-out was more common in the regions where repeated methylation occurred [31].

When the data obtained from our study were evaluated, it was determined that the APC1A, APC1B and RASSF1A genes in the hFOB 1.19 cells kept in co-culture medium were hyper-methylated, whereas the APC1A, APC1B, and RASSF1A genes remained un-methylated in the environment containing DNase I. In the literature, DNase I has been reported to inhibit tumor cell proliferation as a potential antitumor agent and also reduce metastatic capacity [32,33].

Acknowledgements

This study was supported by Eskişehir Osmangazi University Scientific Research Project Committee with Project Support Number 2014575.

References

- [1] García-Olmo, D. C., Gutiérrez-González, L., Samos, J., Picazo, M. G., Atiénzar, M., García-Olmo, D. (2006). Surgery and hematogenous dissemination: comparison between the detection of circulating tumor cells and of tumor DNA in plasma before and after tumor resection in rats. *Annals of Surgical Oncology*, 13(8), 1136-1144.
- [2] Pulciani, S., Santos, E., Lauver, A. V., Long, L. K., Aaronson, S. A., Barbacid, M. J. N. (1982). Oncogenes in solid human tumours. *Nature*, 300(5892):539.
- [3] Silva, J. M., Garcia, J. M., Dominguez, G., Silva, J., Miralles, C., Cantos, B., et al (2002). Persistence of tumor DNA in plasma of breast cancer patients after mastectomy. *Annals of Surgical Oncology*, 9(1):71-76 .
- [4] Hartmann, A., Blaszyk, H., McGovern, R., Schroeder, J., Cunningham, J., De, E. V. et al (1995). p53 gene mutations inside and outside of exons 5-8: the patterns differ in breast and other cancers. *Oncogene*, 10(4):681-688.
- [5] Runnebaum, I. B., Nagarajan, M., Bowman, M., Soto, D., Sukumar, S. (1991). Mutations in p53 as potential molecular markers for human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(23):10657-10661.
- [6] Gasco, M., Shami, S., Crook, T. J. (2002). The p53 pathway in breast cancer. *Breast Cancer Research*, 4(2):70.
- [7] Petitjean, A., Mathe, E., Kato, S., Ishioka, C., Tavtigian, S. V., Hainaut, P., et al (2007). Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Human Mutation*, 28(6):622-629.
- [8] Powell, E., Piwnica-Worms, D., Piwnica-Worms, H. (2014). Contribution of p53 to metastasis. *Cancer Discov*, 4(4):405-414
- [9] Yang, P., Du, C., Kwan, M., Liang, S., Zhang, G. J. (2013). The impact of p53 in predicting clinical outcome of breast cancer patients with visceral metastasis. *Scientific Reports*, 3:2246.
- [10] Kulis, M., Esteller, M. (2010). Methylation and cancer. *Adv. Genet*, 70:27-56.
- [11] Müller, H. M., Widschwendter, A., Fiegl, H., Ivarsson, L., Goebel, G., Perkmann, E., et al. (2003). DNA methylation in serum of breast cancer patients: an independent prognostic marker. *Cancer Research*, 63(22):7641-7645.
- [12] Lewis, C. M., Cler, L. R., Bu, D-W., Zöchbauer-Müller, S., Milchgrub, S., Naftalis, E. Z, et al. (2005). Promoter hypermethylation in benign breast epithelium in relation to predicted breast cancer risk. *Clinical Cancer Research*, 11(1):166-172.
- [13] de Lamirande, G. (1961). Action of deoxyribonuclease and ribonuclease on the growth of Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Nature*, 192(4797):52.
- [14] Lahm, A., Suck, D. (1991). DNase I-induced DNA conformation: 2 Å structure of a DNase I-octamer complex. *Journal of Molecular Biology*, 222(3):645-667.
- [15] Leon, S. A., Shapiro, B., Servi, P., Parsons, R. G. (1981). A comparison of DNA and DNA-binding protein levels in malignant disease. *European Journal of Cancer*, 17(5):533-538.
- [16] Gahan, P., Stroun, M. (2010). The biology of circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS). *Extracellular Nucleic Acids*, Springer.
- [17] Lazarovici, A., Zhou, T., Shafer, A., Machado, A. C. D., Riley, T. R., Sandstrom, R., et al (2013). Probing DNA shape and methylation state on a genomic scale with DNase I. *PNAS*, 110(16):6376-6381.
- [18] Papadopoulou, E., Davilas, E., Sotiriou, V., Georgakopoulos, E., Georgakopoulou, S., Koliopoulos, A., et al. (2006). Cell-free DNA and RNA in plasma as a new molecular marker for prostate and breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*, 1075(1):235-243.
- [19] Armenante, F., Merola, M., Furia, A., Tovey, M., Palmieri, M. (1999). Interleukin-6 repression is associated with a distinctive chromatin structure of the gene. *Nucleic Acids Research*, 27(22):4483-4490.
- [20] Jeronimo, C., Monteiro, P., Henrique, R., Dinis-Ribeiro, M., Costa, I., Costa, V. L., et al. (2008). Quantitative hypermethylation of a small panel of genes augments the diagnostic accuracy in fine-needle aspirate washings of breast lesions. *Breast Cancer Research and Treatment*, 109(1):27-34.
- [21] Swellam, M., Abdelmaksoud, M. D., Sayed Mahmoud, M., Ramadan, A., Abdel-Moneem, W., Hefny, M. M. (2015). Aberrant methylation of APC and RARβ2 genes in breast cancer patients. *IUBMB Life*, 67(1):61-68.
- [22] Dulaimi, E., Hillinck, J., de Caceres, I. I., Al-Saleem, T., Cairns, P. (2004). Tumor suppressor gene promoter hypermethylation in serum of breast cancer patients. *Clin Cancer Res*, 10(18):6189-6193.

- [23] Hoque, M. O., Feng, Q., Toure, P., Dem, A., Critchlow, C. W., Hawes, S. E., et al. (2006). Detection of aberrant methylation of four genes in plasma DNA for the detection of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(26):4262-4269.
- [24] Hu, X-C., Wong, I. H., Chow, L. W. C. (2003). Tumor-derived aberrant methylation in plasma of invasive ductal breast cancer patients: clinical implications. *Oncology Reports*, 10(6):1811-5181.
- [25] Skvortsova, T., Rykova, E., Tamkovich, S., Bryzgunova, O., Starikov, A., Kuznetsova, N., et al. (2006). Cell-free and cell-bound circulating DNA in breast tumours: DNA quantification and analysis of tumour-related gene methylation. *Br J Cancer*, 94(10):1492.
- [26] Yazici, H., Terry, M. B., Cho, Y. H., Senie, R. T., Liao, Y., Andrulis, I., et al. (2009). Aberrant methylation of RASSF1A in plasma DNA before breast cancer diagnosis in the Breast Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18(10):2723-2725.
- [27] Fackler, M. J., Bujanda, Z. L., Umbricht, C., Teo, W.W., Cho, S., Zhang, Z., et al. (2014). Novel methylated biomarkers and a robust assay to detect circulating tumor DNA in metastatic breast cancer. *Cancer Res*, 74(8):2160-2170.
- [28] Yazici, H., Terry, M. B., Cho, Y. H., Senie, R. T., Liao, Y., Andrulis, I., et al (2009). Aberrant methylation of RASSF1A in plasma DNA before breast cancer diagnosis in the Breast Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18(10):2723-2725.
- [29] Golonka, R. M., Yeoh, B. S., Petrick, J. L., Weinstein, S. J., Albanes, D., Gewirtz, A. T., et al. (2019). Deoxyribonuclease I Activity, Cell-Free DNA, and Risk of Liver Cancer in a Prospective Cohort. *JNCI Cancer Spectrum*, 2(4):pky083.
- [30] Kochanek, S., Renz, D., Doerfler, W. (1993). Differences in the accessibility of methylated and unmethylated DNA to DNase I. *Nucleic Acids Res*, 21(25):5843-5845.
- [31] Lu, R., Wang, Y., Xu, X., Xie, S., Wang, Y., Zhong, A., et al. (2018). Establishment of a detection assay for DNA endonuclease activity and its application in the screening and prognosis of malignant lymphoma. *BMC Biochem*, 19(1):6.
- [32] Barták, B., Nagy, Z., Spisák, S., Tulassay, Z., Dank, M., Igaz, P., et al. (2018). In vivo analysis of circulating cell-free DNA release and degradation. *Orv Hetil*, 159(6):223-233.
- [33] Trejo-Becerril, C., Pérez-Cardenas, E., Gutiérrez-Díaz, B., De La Cruz-Sigüenza, D., Taja-Chayeb, L., González-Ballesteros, M., et al. (2016), Antitumor effects of systemic DNase I and proteases in an in vivo model, *Integrative Cancer Therapies*, 15(4):NP35-NP43.



The antiproliferative potential of isolated emodin and aloe-emodin from *Rheum ribes* on different cancer cell lines

Mehmet Kadir ERDOĞAN ^{*1}, Can Ali AĞCA ², İbrahim Halil GEÇİBESLER ³
ORCID: 0000-0002-1579-5737; 0000-0002-0244-3767; 0000-0002-4473-2671

¹Bingöl University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, 12000, Bingöl, Turkey

²Bingöl University, Faculty of Arts and Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bingöl, Turkey

³Bingöl University, Faculty of Health Science, Department of Occupational Health and Safety, Laboratory of Natural Product Research, 12000, Bingöl, Turkey

Abstract

Herbal compounds are important resources that used in the treatment of many diseases, and are inspiring in drug design and development. *Rheum ribes*, a perennial native plant, has potentially diverse medicinal effects, including antioxidant, antibacterial and anti-tumor activity. The key molecules associated with anticancer activity of *R. ribes* in tumor formation still remains unclear. The present study was aimed to elucidate the antiproliferative effects of two purified compounds, emodin and aloe-emodin, from *R. ribes*. In our study, chromatographic separation was used to purification of compounds. Experimental 1D and 2D 1H and 13C-NMR spectra helped us to confirm the chemical structures of emodin and aloe-emodin. The viability of human glioblastoma cell line (U373), human breast carcinoma cells (MCF-7), and human colorectal cancer cell line (HT-29) were detected by WST-1 proliferation assay as dose- and time-dependent. The isolated emodin and aloe-emodin from *R. ribes*, reduced viability of human glioblastoma, breast and colorectal cancer cell lines in dose- and time-dependent manner significantly. These antiproliferative effects may contribute as a possible strategy to the development of new therapeutic approaches in the treatment of cancer.

Key words: *Rheum ribes*, emodin, aloe-emodin, cancer, glioblastoma

----- * -----

Rheum ribes'ten izole edilen emodin ve aloe-emodinun farklı kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif potansiyeli

Özet

Bitkisel bileşikler birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ve ilaç tasarımı ve geliştirilmesinde ilham verici olan önemli kaynaklardır. Çok yıllık doğal bir bitki olan *Rheum ribes*, antioksidan, antibakteriyel ve anti-tümör aktivite dahil olmak üzere çeşitli potansiyel tıbbi etkilere sahiptir. *R. ribes*'in tümör oluşumundaki antikanser aktivitesi ile ilişkili anahtar moleküller hala belirsizliğini korumaktadır. Bu çalışmanın amacı, *R. ribes*'den saflaştırılan iki bileşik olan emodin ve aloe-emodinun antiproliferatif etkilerini aydınlatmaktır. Çalışmamızda bileşiklerin saflaştırılması için kromatografik ayırma kullanılmıştır. Deneysel 1D ve 2D 1H ve 13C-NMR spektrumları, emodin ve aloe-emodinun kimyasal yapılarını doğrulamamıza yardımcı oldu. İnsan glioblastom hücre hattının (U373), insan meme karsinom hücrelerinin (MCF-7) ve insan kolorektal kanser hücre hattının (HT-29) canlılığı, WST-1 proliferasyon analizi ile doza ve zamana bağlı olarak belirlendi. *R. ribes*'den izole edilmiş emodin ve aloe-emodin, insan glioblastomu, meme ve kolorektal kanser hücre hatlarının canlılığını doza ve zamana bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaltmıştır. Bu antiproliferatif etkinlik, kanser tedavisinde yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine olası bir strateji olarak katkıda bulunabilir.

Anahtar kelimeler: *Rheum ribes*, emodin, aloe-emodin, kanser, glioblastoma

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +904262160031; Fax.: +904262160031; E-mail: mkerdogan@bingol.edu.tr

1. Introduction

Plants have been used for many centuries as nutrient, dietary supplementation, food additives, flavoring, and main source of drugs used in treatment of human sickness. In particular, the therapeutic properties of plants are currently being studied intensively for the development and discovery of newer therapeutics. Increasing incidence and high mortality rates have made highlighted the studies on the treatment of cancer in recent years. In cancer studies, phyto-compounds, which are compounds derived from plants, have an important position, because of their low or no cytotoxicity and clinical efficacy. Plant-derived compounds such as irinotecan, camptothecin, paclitaxel, vinblastine, combrestatin and etoposide, are used in clinical as chemotherapy drugs [1], and natural plant polyphenols, curcumin, quercetin, resveratrol, luteoline, gallic acid, hesperidine and genistein, etc., are also considered as promising adjuvants for cancer prevention and treatment [2].

Rheum species are known to have medical importance in the treatment of many diseases and disorders. *Rheum ribes* L., a member of the Polygonaceae family, is an important source in folk medicine. The medically important *Rheum* species are rich in anthracene-derived compounds [3]. *R. ribes* are used to treat laxative and joint disorders in Iran [4, 5]. The Polygonaceae family also includes eight genera and seventy species in the Turkey. *R. ribes* is the only species in the family represented by the Turkey [6]. This plant grows naturally Turkey, Lebanon and Iran and it famous with names “İşgın, Kurdish Banana and Uçgun”.

R. ribes' young twigs and stems consumed as the salad, fresh vegetable and appetizing by the local people especially in Turkey's eastern and south-eastern Anatolia region. Besides, roots, leaves, flowers and stems are also used by natives in this area to treat the bile ducts, stomach discomforts, diarrhea, hemorrhoids, measles and smallpox as well its use as an appetite enhancer [7, 8]. Further, ethnobotanists in Jordan reported that the root of *R. ribes* was used by the public in diabetes, hypertension, obesity, kidney stone and sand [9]. Water decoction from the *R. ribes* roots was shown to reduce blood sugar in mice when given to mice diabetic with alloxan, but not hypoglycemia when administered to healthy mice forming the control group [10]. It was shown that isolates of the roots, leaves and stems of *R. ribes* had anti-viral and anti-microbial effect activity [11-14].

Phytochemical studies performed by the researchers on *R. ribes* species were collected from different provinces, such as Hakkari and Erzincan in Turkey. It has revealed the existence of different types of secondary metabolites chrysophanol, rhein, emodin, aloe-emodin, aloe-emodin-8-O-glucoside, physcion, physcion-8-O-glucoside, sennoside A, rhaponticin quercetin, 5-desoxyquercetin, quercetin 3-O-rhamnoside, quercetin 3-O-galactoside and quercetin 3-O-rutinoside [15-17].

The objective of this study was to purify the bioactive compounds, emodin (E) and aloe-emodin (AE), from *R. ribes*, and to determine the anti-proliferative activities of these purified compounds first time. The anti-proliferative activities of E and AE was observed in the cancer cell models of human glioblastoma, breast and colorectal cancer, U373, MCF-7 and HT-29 cell lines, respectively. This study elucidates the anticancer potential of *R. ribes* E and AE phytochemicals as potential anti-tumor agents.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

R. ribes species, which were grown at 2000 m and higher in the natural habitats of Yelesen village of Bingöl, Turkey, were collected from the field following the flowering period during April-May months. The collection of the species was devoted to collecting without destroying nature. The species identification of the plant material was made by Alpaslan Koçak and the herbarium specimen was stored with KOÇAK 4003 registration number. *R. ribes*, collected in a suitable form from the field, was spread on unprinted paper and dried in a damp and shaded environment. The dried material was milled in the laboratory type mill so as not to exceed 3 cm.

2.2. Chemicals and reagents

Dulbecco's modified eagle medium-high glucose (DMEM-HG), fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin and phosphate buffered saline (PBS) was obtained from Lonza (Walkersville, MD, USA). Tripan blue, tris HCl, trypsin-EDTA, dimethyl sulphoxide (DMSO), ethanol and methanol was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Hydrogen peroxide (H₂O₂), sodium hydroxide (NaOH) and glycine was purchased from Merck (Darmstadt, Germany). WST-1 [Water Soluble Tetrazolium-1; 2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2, 4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt] cell proliferation assay kit was obtained from Intron Biotechnology (Gyeonggi-do, Korea).

2.3. Extraction, fractionation and isolation process

Dried and ground plant material (5 kg) was taken in a glass flask and 10.0 L of methanol: chloroform (1:1; v/v ratio) was added and left to extraction for 2 days at the laboratory temperature. At the end of the second day, the extract

was filtered with the help of the Whatman no 4 filter paper and the remaining pulp was allowed to be extracted again with the same amount and ratio of solvent system. This procedure was repeated three more times. The extracts obtained by the extraction process were combined and the solvents they contained were removed under reduced pressure at a temperature of 35°C by means of the rotary evaporator. Removal of the solvent system from the extracts yielded 523.8 g of dry extract with a yield of 10.476%. The extraction yield was calculated by the following formula; % Extract yield = [Dry extract amount (g)/dry plant quantity (g)]x100. The dry extract was stored at +4°C by taking an amber flask for anticancer activity and isolation studies. For isolation, 50 g of methanol: chloroform dry extract was dissolved in 1L of distilled water. The aqueous extract was fractionated with chloroform (8x0.6 L). At the end of the fractionation, 15.63 g of dry chloroform extract was obtained as a result of the removal of chloroforms by rotary evaporator. Isolation process was continued with this part. For the flash chromatography system, the pharmaceutical glass column (5x60cm) containing sephadex LH-20 column filler. The methanol: chloroform (35:65; v: v) solvent system was used as mobile phase and operating conditions for elution collection were adjusted to 2 mL per minute. A total of 126 sub-fractions were eluted in each elution volume of 10 mL. As a result of the chromatographic separation, the emodin (68 mg) and aloe-emodin (56 mg) were obtained in the sub-fraction 37 and 75, respectively (Figure 1).

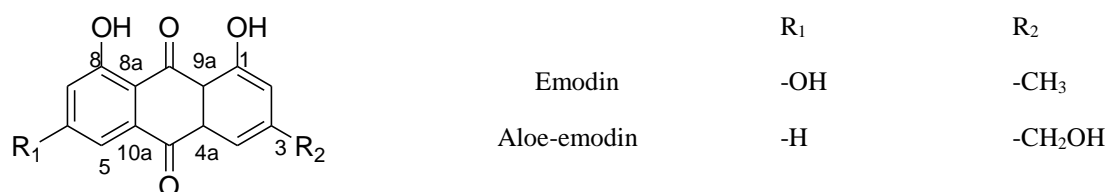


Figure 1. Chemical structures of emodin and aloe-emodin from *R.ribes*

2.4. Cell lines and cell culture conditions

Human glioblastoma cells (U373), breast cancer cell line (MCF-7) and colorectal adenocarcinoma cells (HT-29), were obtained from the Central Laboratory Research and Application Center of Bingol University, Turkey. All cell lines were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin/streptomycin, and cells were maintained in a humidified atmosphere of 5% CO₂ at 37°C [18].

2.5. Cell viability

The dose- and time-dependent antiproliferative effects of E and AE from *R. ribes*, was measured using the WST-1 cell proliferation assay kit according to manufacturer's protocol (Intron Biotechnology, Gyeonggi-do, Korea), *in vitro*. Cells (5 × 10³ cells/well) were seeded into 96-well culture plates and incubated at 37°C and 5% CO₂ overnight. The plates were treated with various concentrations (1, 10, 25, 50, and 100 µg/mL) of E and AE for 24 and 48 hours. The control groups were exposed to 0.05% DMSO containing media. Culture medium was replaced by fresh medium and 10 µl of WST-1 reagent were pipetted into wells. After 3 h incubation period, the amount of soluble formazan dye produced by metabolically active cells was measured with an ELISA microplate reader (SpectraMax 384 Plus, Molecular Devices, USA) at 450 nm as absorbance (optical density (OD)). The mixture of WST-1 reagent and culture medium without cells was evaluated as a background control. To determine percentage of cell survival that formula was used: % cell survival = OD_{test}/OD_{control} × 100%. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value for each test group was calculated according to the findings.

2.6. Statistical analysis

Each assay was performed in three experiments and mean ± standard deviation (SD) values were calculated. Statistical analysis of the findings were evaluated by t-test and one-way ANOVA test using GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). *P* values <0.05 was assumed to be statistically significant.

3. Results

3.1. Chemical characterization

The ¹H and ¹³C NMR spectra of E and AE compounds were analyzed using 600 MHz NMR spectrometer (Bruker AVANCE). 7 mg of each compound was taken to NMR tube and dissolved in 450 µL of DMSO-*d*₆. The chemical shifts of compounds that consistent with the literature was documented in the table 1 [19, 20]. Also chemical structures of emodin and aloe-emodin confirmed by experimental 1D and 2D ¹H and ¹³C-NMR spectra.

Table 1. The ^{13}C -NMR chemical shifts (δ ; ppm) of the emodin, aloe-emodin and they comparison with literature data (150 MHz, DMSO- d_6)

	Emodin (Experimental)	Emodin [19]	Aloe-emodin (Experimental)	Aloe-emodin [20]
C1	166.03	166.44	161.76	161.8
C2	108.39	108.17	117.51	117.7
C3	161.87	162.14	154.14	154.5
C4	109.43	109.36	124.78	125.1
C5	124.59	124.51	121.06	121.4
C6	148.71	148.76	137.72	138.0
C7	120.93	121.23	119.74	120.0
C8	164.90	166.17	162.06	162.1
C9	190.19	190.43	191.97	191.9
C10	181.85	181.34	181.70	182.1
C4a	135.58	135.47	133.64	134.7
C8a	113.85	113.90	114.73	114.9
C9a	109.22	109.36	116.18	116.4
C10a	133.29	133.10	133.41	133.5
-OCH ₃	21.96	21.50		63.3
-CH ₃			62.50	

3.2. Antiproliferative effects of emodin and aloe-emodin from *R. ribes*

The dose- and time-dependent antiproliferative activities of E and AE were assessed in U373, MCF-7 and HT-29 cells. The increasing concentrations of E and AE were treated cell lines. After 24 and 48 h treatment, the viability of the cells were observed with WST-1 cell proliferation assay. The GraphPad Prism 8 software was used to estimate the half-maximal inhibitory concentrations (IC₅₀).

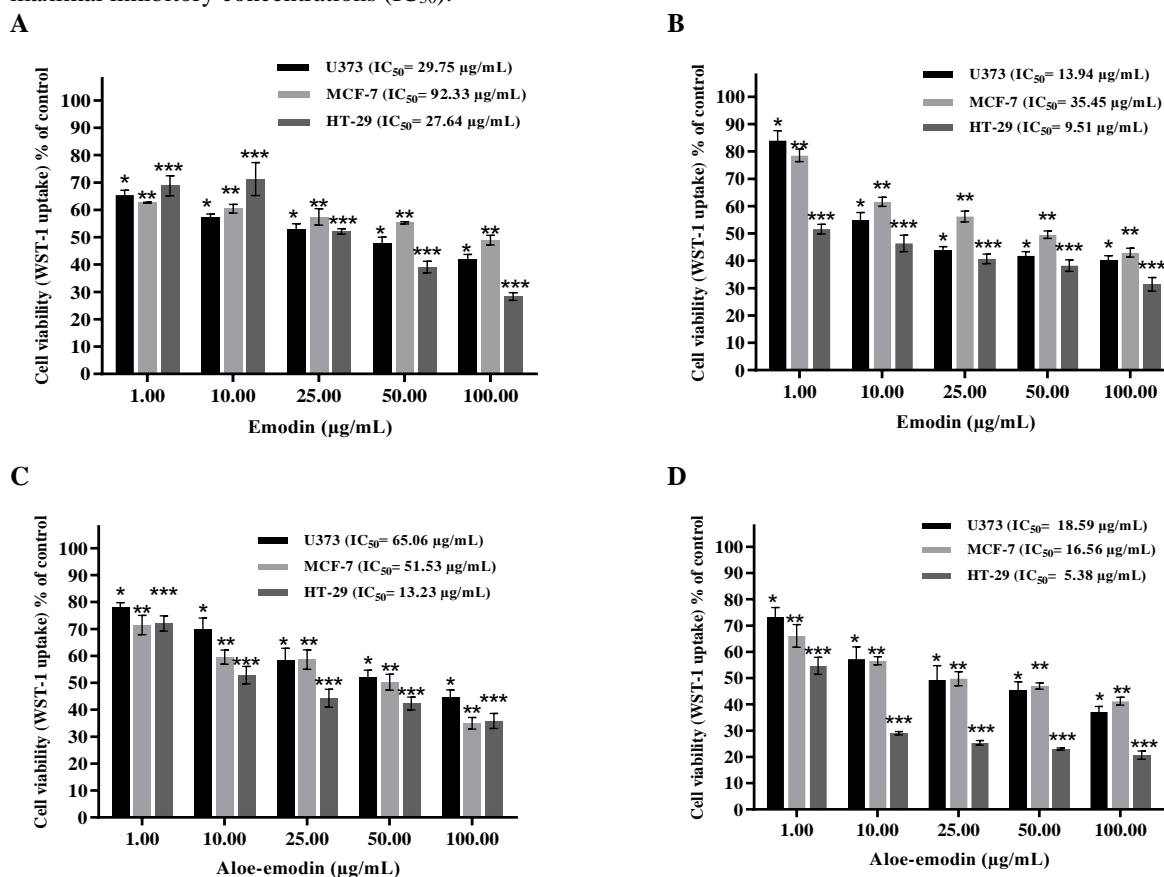


Figure 2. Emodin and aloe-emodin, from *R. ribes*, decreases the viability of cancer cells *in vitro*. U373, MCF-7 and HT-29 cells, grown in conditions which as described in materials and methods. (A) The cancer cells were treated for 24 h with different concentrations of E. (B) U373, MCF-7 and HT-29 cells were treated for 48 h with various concentrations of E. (C) The cells were treated with different AE concentrations for 24 h. (D) U373, MCF-7 and HT-29 cells were treated with various concentrations of AE for 48 h. The GraphPad Prism 8 programme was used to calculate the IC₅₀ values for E and AE. Asterisks indicate statistical significance by comparison of treatment groups with control cells (100%, cells treated with 0.05% DMSO containing media). The results are mean \pm SD of three experiments (U373 * p <0.001; MCF-7 ** p <0.001 and HT-29 *** p <0.001, when compared to control).

E and AE exhibited dose- and time-dependent effects on viability of all cell lines. As shown in Fig 2, the decreases in percentage of viability were statistically significant in all treatment groups compared to control (U373 * $p < 0.001$; MCF-7 ** $p < 0.001$; and HT-29 *** $p < 0.001$). Treatment with E at 1 $\mu\text{g/mL}$ significantly reduced viability in all three cell lines in 24 h treatments, however, the decrease in viability of U373 and MCF-7 cells was milder at 48 hours treatment of the same concentration. The IC_{50} values of E, at 24 h treatment, were 29.75, 92.33 and 27.64 $\mu\text{g/mL}$ for U373, MCF-7 and HT-29 cell lines, respectively (Fig 2A). The required concentrations of E to inhibit the growth of 50% of cells (IC_{50}) for U373, MCF-7 and HT-29 were 13.94, 35.45 and 9.51 $\mu\text{g/mL}$ at 48 hours (Fig 2B). These results indicate that, 48 h treatment with E reduces IC_{50} values by more than half, compared to 24 h treatment. On the other hand, the viability of the cells decreased significantly in treated with AE at 1 $\mu\text{g/mL}$, which was the lowest concentration, but at the highest concentration, 100 $\mu\text{g/mL}$, the viability of all cells was the lowest at 48 hours of treatment. AE treatment at 100 $\mu\text{g/mL}$ in 48 h, reduced the viability of U373 human glioblastoma cells, MCF-7 breast cancer cell line and HT-29 colorectal adenocarcinoma cells to 37.1, 41.2 and 20.7%, respectively (Fig 2D). The IC_{50} values of AE were 65.06, 51.53, 13.23 $\mu\text{g/mL}$ and 18.59, 16.56, 5.38 $\mu\text{g/mL}$ in U373, MCF-7 and HT-29 cell lines, at 24 and 48 h treatment, respectively (Fig 2C, Fig 2D). IC_{50} values in 48 h AE treatment groups, also decreased approximately three-fold compared to 24 h treatments.

4. Conclusions and discussion

Cancer causes huge losses as a major health problem all over the world. Many new therapeutics and clinical treatments have been proposed to combat this disease. In this context, herbal-based treatment approaches stand out in the fight against cancer with their low toxic effects and efficacy. The therapeutic potential of medicinal plants has recently aroused a great interest in the treatment and prevention of many diseases, such as cancer [21]. The anticarcinogenic effect of *Rheum* genus have been shown in several studies. It was determined that *R. officinale* water extract was significantly growth inhibitory on A549 and MCF-7 cell lines and IC_{50} values were 620 and 515 $\mu\text{g/mL}$ [22]. *R. emodi* water and methanol extracts have been reported to show anticancer activity against two human carcinomas (MDA-MB-435S breast cancer and Hep3B liver carcinoma cell lines) [23]. *R. ribes* ethanol, water and methanol extracts significantly reduce the viability of HCT-116, A2780, MCF-7 and PC-3 cells, especially at concentrations of 25, 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$, and in the same cell lines the IC_{50} values were determined between 14.2-42.2 $\mu\text{g/mL}$ [24]. In another study, ethanolic extract of *R. ribes* was showed significantly cytotoxic activity against SW742 and MCF-7 cells, and this extract inhibited the half of the cells at concentrations of 46.4 and 51.3 $\mu\text{g/mL}$, respectively [25]. *R. ribes* butanol fraction exhibited antiproliferative activity on MCF-7 human breast cancer cells, and IC_{50} value was determined as 36 $\mu\text{g/mL}$ [26]. *R. ribes* is particularly rich in anthraquinone compounds, and emodin and aloe-emodin are among the main components [15-17]. In this study, the anti-proliferative effects of two anthraquinone derivatives, emodin (1,3,8 trihydroxy-6-methylanthraquinone) and aloe-emodin (1,8-dihydroxy-3-hydroxymethylanthraquinone), which isolated from *R. ribes*, were investigated on different cancer cell lines.

Glioblastoma is a malignant brain tumor that affects stem/progenitor cells in the brain and it has the rapidly spread potential in adults [27]. Ismail *et al.* demonstrated that aloe-emodin inhibits proliferation of U87 malignant glioma cells in a dose and time dependent manner and has an IC_{50} value of 58.6 $\mu\text{g/mL}$ in 24 h treatment and 25.0 $\mu\text{g/mL}$ in 48 h treatment [28]. In accordance with this study, we found that aloe-emodin, that isolated from *R. ribes*, was decreased the viability of U373 glioblastoma cells in a dose and time dependent manner, and the IC_{50} value was 65.1 $\mu\text{g/mL}$ and 18.6 $\mu\text{g/mL}$ at 24 and 48 h treatment, respectively. We have also demonstrated that isolated emodine significantly inhibits the viability of U373 glioblastoma cells depending on increasing time and concentration.

Breast cancer is the most common cancer among women and accounts for 9.6% of cancer-related deaths worldwide [29]. Kang *et al.* determined the IC_{50} value of the emodin and aloe-emodin isolated from *R. palmatum* for 48 h in MCF-7 breast cancer cells as 16.4 and 12.6 $\mu\text{g/mL}$, respectively [30]. Similarly, we found the IC_{50} value as 16.6 $\mu\text{g/mL}$ for *R. ribes*' aloe-emodin in MCF-7 cells at 48 h treatment. However, isolated emodin from *R. ribes* was had a milder antiproliferative effect than aloe-emodin. It has been reported that, emodin and aloe-emodin significantly inhibited the proliferation of MCF-7 cells in a dose and time dependent manner and show anticancer activity [31]. We can also say that, emodin and aloe-emodin show anticancer activity depending on dose and concentration, and these two compounds make important contributions to *R. ribes* anticancer potential.

Colorectal cancer is the second cause of cancer-related deaths in both men and women [32]. Suboj *et al.* treated WiDr, RKO, SW 480 and SW 620 colon adenocarcinoma cells for 48 h with commercially AE, and showed that AE has a dose-dependent antiproliferative effect and it was arrested the cell cycle in the G2/M phase [33]. Similarly, in our study, AE exhibited dose-dependent inhibition in the proliferation of HT-29 colorectal cancer cells. In addition, both emodin and aloe-emodin, that isolated from *R. ribes*, significantly inhibited the proliferation of HT-29 colorectal adenocarcinoma cells, even at very low concentrations.

Overall, these results indicate that, isolated emodin and aloe-emodin from *R. ribes* have a significant anti-proliferative effect in human breast, colon and glioma cancer cell lines, and therewithal suggesting that these isolated compounds from *R. ribes* have potential therapeutic efficacy in the prevention and treatment of cancer. However, further investigations are needed to clarify the molecular mechanisms of these isolated compounds.

Acknowledgements

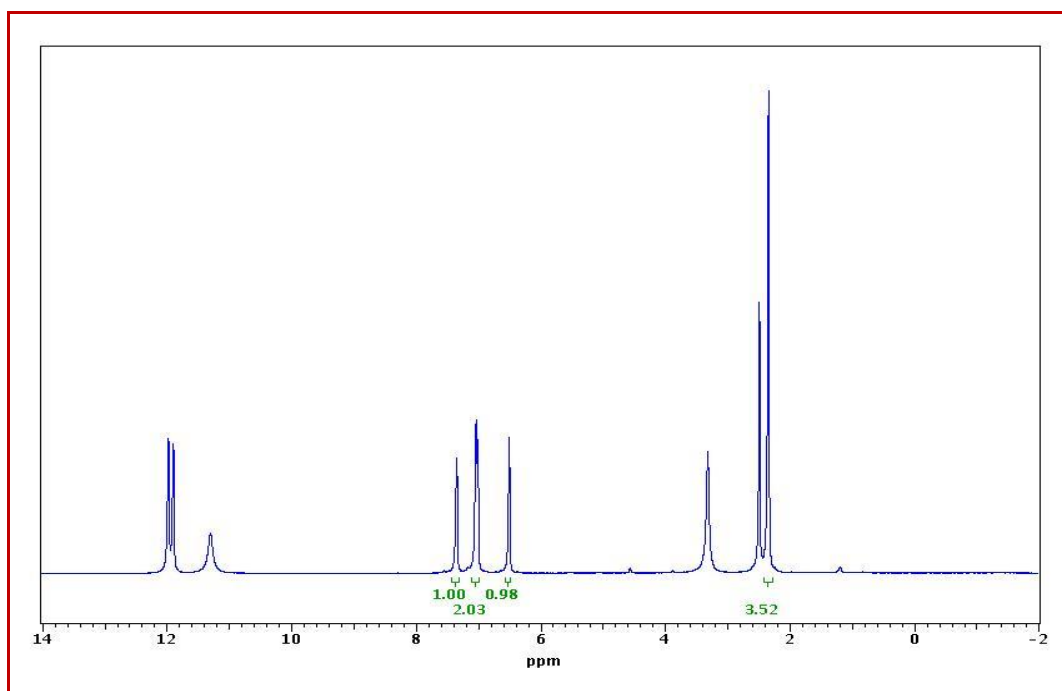
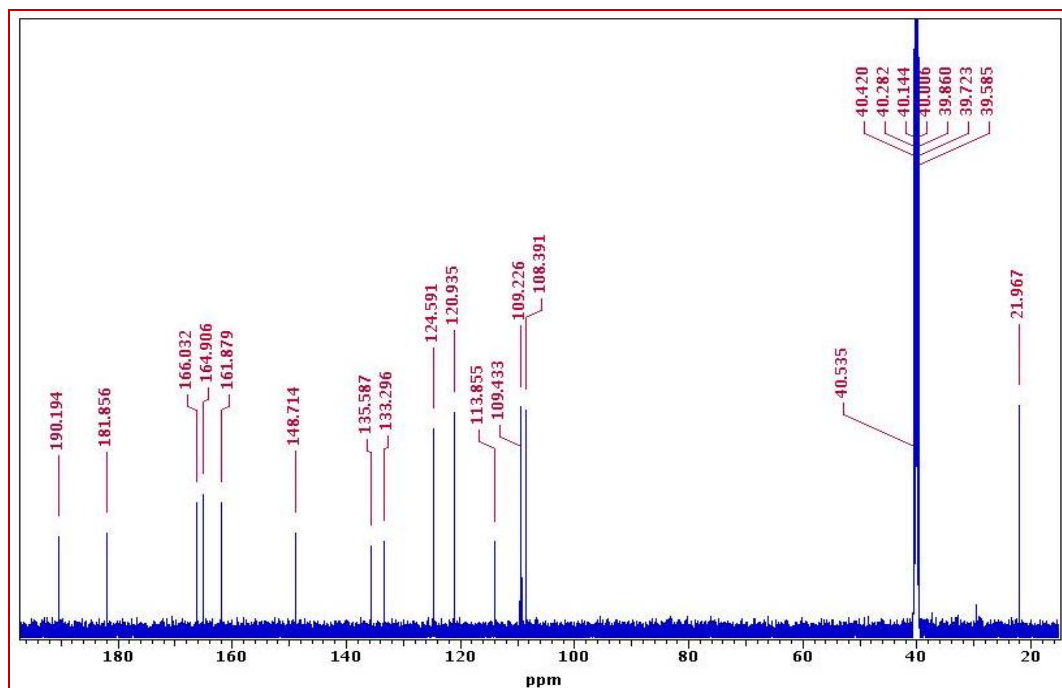
This study was supported by The Scientific Research Projects Coordination Unit of Bingol University (Project no: BAP-FEF.2017.00.010).

References

- [1] Saklani, A., Kutty, S. K. (2008). Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug discovery today*, 13(3-4), 161-171. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.10.010>
- [2] Zhou, Y., Zheng, J., Li, Y., Xu, D. P., Li, S., Chen, Y. M., Li, H. B. (2016). Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients*, 8(8), 515. <https://doi.org/10.3390/nu8080515>
- [3] Kashiwada, Y., Nonaka, G. I., Nishioka, I., Yamagishi, T. (1988). Galloyl and hydroxycinnamoylglucoses from rhubarb. *Phytochemistry*, 27(5), 1473-1477. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80218-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80218-8)
- [4] Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M. E., Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103(2), 623-630. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.005>
- [5] Shockravi, A., Agh Nasiri, K. (1997). Synthesis of 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-Octahydro-9-Ethoxy-10-Hydroxy-1-Anthracenone [OEHA]. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, 16(1), 10-14.
- [6] Cullen, J. (1966). *Rheum L.* In PH. Davis (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 2, pp. 268–269). Edinburgh: Edinburgh University Press.
- [7] Baytop, T. (1999). *Rheum ribes L.* In T. Baytop (Ed.). *Therapy with medicinal plants in turkey* (Vol. 1, pp. 319–320). Istanbul: Nobel Tıp Publication Press.
- [8] Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yeşilada, E., Fukui, H., Goto, K., Ikeshiro, Y. (1994). Traditional medicine in Turkey III. Folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis provinces. *Int. J of Pharmacognosy*, 32(1), 3-12. <https://doi.org/10.3109/13880209409082966>
- [9] Abu-Irmaileh, B. E., Afifi, F. U. (2003). Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2-3), 193-197. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00283-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00283-6)
- [10] Ozbek, H., Ceylan, E., Kara, M., Ozgokce, F., Koyuncu, M. (2004). Hypoglycemic effect of *Rheum ribes* roots in alloxan induced diabetic and normal mice. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 31(2), 113-115.
- [11] Bazzaz, B.S.F., Khajehkaramadin, M., Shokoheizadeh, H.R. (2005). *In vitro* antibacterial activity of *Rheum ribes* extract obtained from various plant parts against clinical isolates of gram-negative pathogens. *Iran. J. Pharm. Res*, 2, 87-91.
- [12] Bonjar, G. S. (2004). Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal-plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. *Asian J. Plant Sci*, 3(1), 82-86.
- [13] Bonjar, G. S. (2004). Inhibition of three isolates of *Staphylococcus aureus* mediated by plants used by Iranian native people. *J Med Sci*, 4(2), 136-141.
- [14] Hudson, J. B., Lee, M. K., Sener, B., Erdemoglu, N. (2000). Antiviral activities in extracts of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical biology*, 38(3), 171-175. [https://doi.org/10.1076/1388-0209\(200007\)3831-SFT171](https://doi.org/10.1076/1388-0209(200007)3831-SFT171)
- [15] Mericli, A. H., Tuzlaci, E. (1990). Constituents of *Rheum ribes*. *Fitoterapia*, 61(4).
- [16] Tuzlacı, E., Meriçli, A. H. (1991, May). Some studies on Isgın (*Rheum ribes*) and its distribution in Turkey. In *Proceeding of the 9th Symposium on Plant Drugs* (16-19 May 1991, Eskisehir), Turkey (pp. 336-341).
- [17] Tosun, F., Kizilay, C. A. (2003). Anthraquinones and flavonoids from *Rheum ribes*. *J Fac Pharm Ankara*, 32, 31-5.
- [18] Erdoğan, M. K., Ağca, C. A., Aşkın, H. (2019). Enhanced antiproliferative and apoptotic effects of 5-fluorouracil by combined with *Pistacia eurycarpa* Extracts on human colorectal cancer cells. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 27-38. <https://doi.org/10.5505/biodicon.2019.57441>
- [19] Barros, I. B. D., Daniel, J. F. D. S., Pinto, J. P., Rezende, M. I., Braz Filho, R., Ferreira, D. T. (2011). Phytochemical and antifungal activity of anthraquinones and root and leaf extracts of *Coccoloba mollis* on phytopathogens. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(3), 535-541. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000300015>

- [20] Zhang, Y. Z., Lu, Y. H., Wei, D. Z., Chou, G. X., Zhu, E. Y. (2007). Preparative isolation and purification of hydroxyanthraquinones from *Rheum tanguticum* Maxim. on normal phase silica gel: using a Flash Master Personal system. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 37(3), 185-193. <https://doi.org/10.1080/10826060701386661>
- [21] Erdoğan, M. K., Geçibesler, İ. H., Behçet, L. (2020). Chemical constituents, antioxidant, antiproliferative and apoptotic effects of a new endemic Boraginaceae species: *Paracaryum bingoelianum*. *Results in Chemistry*, 2, 100032. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2020.100032>
- [22] Li, W.Y., Chan, S.W., Guo, D.J., Chung, M.K., Leung, T.Y., Yu, P.H.F. (2009). Water extract of *Rheum officinale* Baill. induces apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 and human breast cancer MCF-7 cell lines. *J. Ethnopharmacol.*, 124(2), 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.030>
- [23] Rajkumar, V., Guha, G., Kumar, R. A. (2011). Antioxidant and anti-cancer potentials of Rheum emodi rhizome extracts. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-9. <https://doi.org/10.1093/ecam/nea048>
- [24] Keser, S., Keser, F., Karatepe, M., Kaygili, O., Tekin, S., Turkoglu, I., Demir, E., Yilmaz, O., Kirbag, S., Sandal, S. (2019). Bioactive contents, In vitro antiradical, antimicrobial and cytotoxic properties of rhubarb (*Rheum ribes* L.) extracts. *Natural product research*, 1-5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1560294>
- [25] Sardari, S., Shokrgozar, M. A., Ghavami, G. (2009). Cheminformatics based selection and cytotoxic effects of herbal extracts. *Toxicology in vitro*, 23(7), 1412-1421. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.07.011>
- [26] Achakzai, J. K., Anwar Panezai, M., Kakar, M. A., Kakar, A. M., Kakar, S., Khan, J., Tareen, A. K. (2019). In vitro anticancer MCF-7, anti-inflammatory, and brine shrimp lethality assay (BSLA) and GC-MS analysis of whole plant butanol fraction of *Rheum ribes* (WBFRR). *BioMed research international*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3264846>
- [27] Mega, A., Hartmark Nilsen, M., Leiss, L. W., Tobin, N. P., Miletic, H., Sleire, L., Enger, P. Ø. (2020). Astrocytes enhance glioblastoma growth. *Glia*, 68(2), 316-327. <https://doi.org/10.1002/glia.23718>
- [28] Ismail, S., Haris, K., Abdul Ghani, A. R. I., Abdullah, J. M., Johan, M. F., Mohamed Yusoff, A. A. (2013). Enhanced induction of cell cycle arrest and apoptosis via the mitochondrial membrane potential disruption in human U87 malignant glioma cells by aloe emodin. *Journal of Asian natural products research*, 15(9), 1003-1012. <https://doi.org/10.1080/10286020.2013.818982>
- [29] Tang, Y., Fu, F., Gao, H., Shen, L., Chi, I., Bai, Z. (2019). Art therapy for anxiety, depression, and fatigue in females with breast cancer: A systematic review. *Journal of psychosocial oncology*, 37(1), 79-95. <https://doi.org/10.1080/07347332.2018.1506855>
- [30] Kang, S. C., Lee, C. M., Choung, E. S., Bak, J. P., Bae, J. J., Yoo, H. S., Zee, O. P. (2008). Anti-proliferative effects of estrogen receptor-modulating compounds isolated from *Rheum palmatum*. *Archives of Pharmacal Research*, 31(6), 722-726. <https://doi.org/10.1007/s12272-001-1218-1>
- [31] Huang, P. H., Huang, C. Y., Chen, M. C., Lee, Y. T., Yue, C. H., Wang, H. Y., Lin, H. (2013). Emodin and aloe-emodin suppress breast cancer cell proliferation through ER α inhibition. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/376123>
- [32] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [33] Suboj, P., Babykutty, S., Srinivas, P., Gopala, S. (2012). Aloe emodin induces G2 / M cell cycle arrest and apoptosis via activation of caspase-6 in human colon cancer cells. *Pharmacology*, 89 (1-2), 91-98. <https://doi.org/10.1159/000335659>

Supplementary data

Figure S1. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of the emodin compound ($^1\text{H-NMR}$: 600 MHz; DMSO-d_6)Figure S2. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of the emodin compound ($^{13}\text{C-NMR}$: 150 MHz; DMSO-d_6)

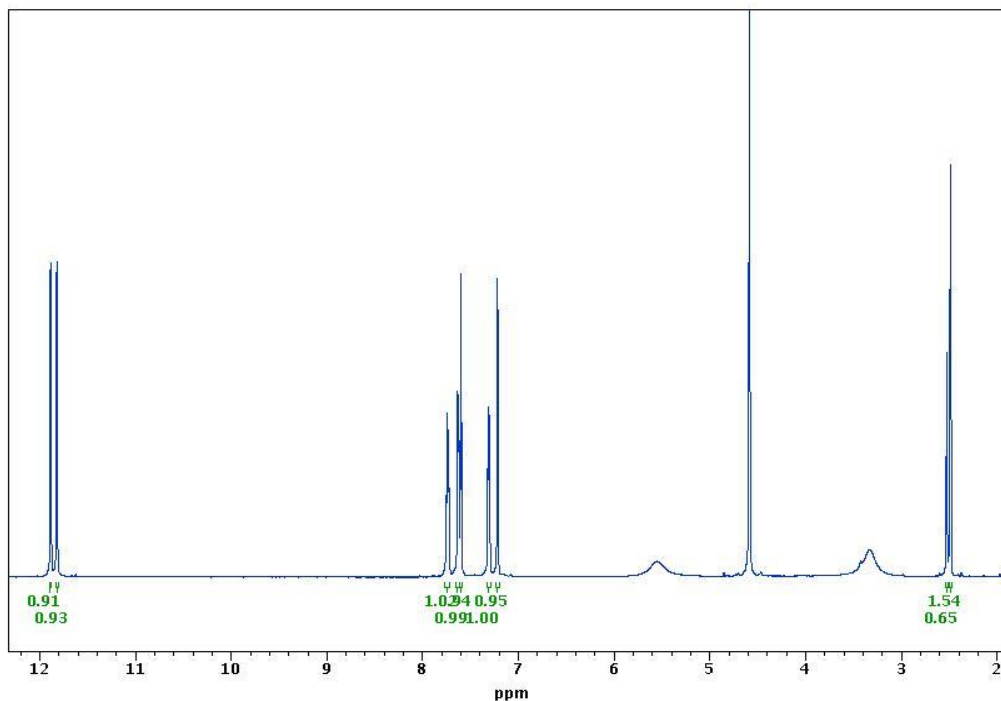


Figure S3. ¹H-NMR spectrum of the aloemodin compound (¹H-NMR: 600 MHz; DMSO-d₆).

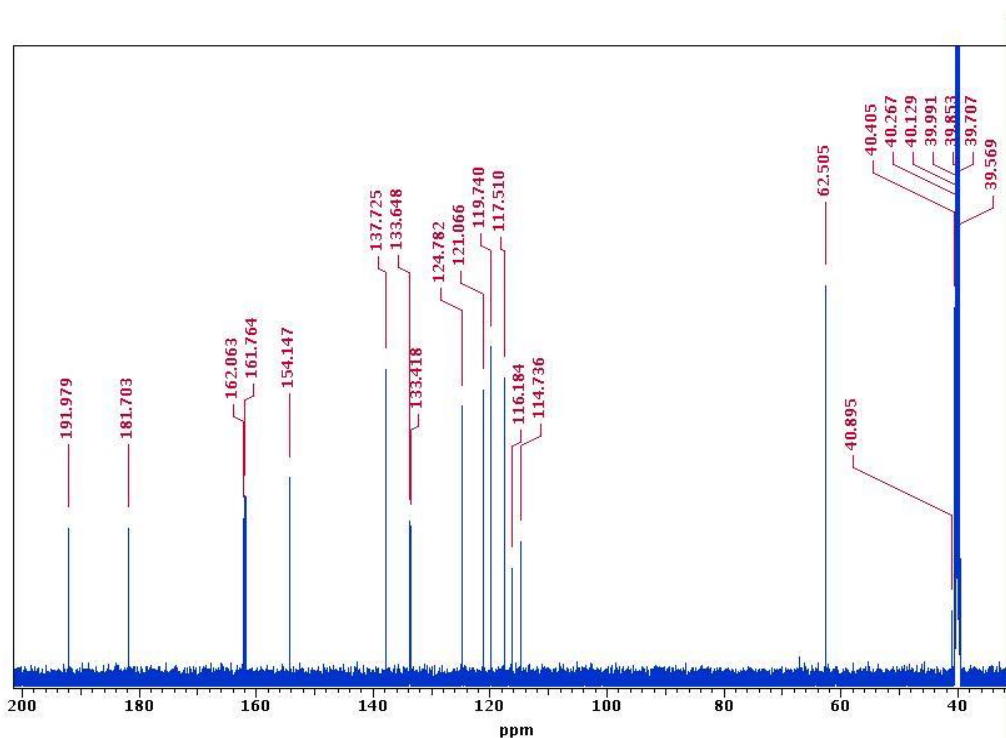


Figure S4. ¹³C-NMR spectrum of aloemodin compound (¹³C-NMR: 150 MHz; DMSO-d₆).



Plants of the Anatolian Arboretum

Ersin YÜCEL *¹

ORCID: 0000-0001-8274-7578

¹ Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26470 Tepebaşı/Eskişehir, Turkey

Abstract

In this study, it was aimed to identify the plants of Anadolu University Arboretum and to make a list of existing plants. In the study, Anadolu University Yunus Emre Campus study area was determined as woody plants as study material. Plants in the arboretum are identified with the help of flora books, named, numbered and labeled. Anadolu University Arboretum was established on an area of 5000 m² within Anadolu Yunus Yunus Emre Campus. At the end of the studies, in Anadolu University Arboretum; It was determined that there were 250 species and six species taxa belonging to 54 families and 108 genera. The families with the most taxa are; Rosaceae (16.8%), Cupressaceae (9.6%), Pinaceae (8.4%), Oleaceae (6%), Caprifoliaceae (5.2%), Fagaceae and Salicaceae (4.4%); Aceraceae and Leguminosae, Moraceae (3.6%); Celastraceae (2.8%), Berberidaceae (2%), Betulaceae (1.6%) and others. Breeds with the most species and subspecies taxa are; Prunus (4.4%), Acer (3.6%), Juniperus (3.2%), Pinus (3.2%), Euonymus and Thuja (2.8%); Chamaecyparis, Quercus and Salix (2.4%); Cedrus, Ficus, Fraxinus, Picea, Populus (2%) and others. Anadolu University Arboretum takes a very important task in nature education, environmental protection, development of social awareness and conservation of biological diversity.

Key words: Arboretum, Trees, Shrubs, Anadolu University, Eskişehir

----- * -----

Anadolu Arboretumu'nun bitkileri

Özet

Bu çalışmada Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nun bitkilerini teşhis etmek ve mevcut bitki listesini çıkarmak amaçlanmıştır. Araştırmada Anadolu Üniversitesi Yunus Emre Kampüsü çalışma alanı, odunsu bitkiler ise çalışma materyali olarak belirlenmiştir. Arboretumda bulunan bitkiler flora kitapları yardımı ile teşhis edilerek, isimlendirilmiş, numaralandırılmış ve etiketlenmiştir. Anadolu Üniversitesi Arboretumu, Anadolu Üniversitesi Yunus Emre Kampüsü içinde 5000 m²'lik bir alanda, oluşturulmuştur. Yapılan çalışmalar sonunda Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nda; 54 familya ve 108 cinse ait, toplam 250 tür ve tür altı takson bulunduğu tespit edilmiştir. En fazla takson içeren familyalar sırası ile Rosaceae (%16,8), Cupressaceae (%9,6), Pinaceae (%8,4), Oleaceae (%6), Caprifoliaceae (%5,2), Fagaceae ve Salicaceae (%4,4), Aceraceae, Leguminosae, Moraceae (%3,6); Celastraceae (%2,8), Berberidaceae (%2), Betulaceae (%1,6) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır. En fazla tür ve tür altı taksona sahip cinsler ise *Prunus* (%4,4), *Acer* (%3,6), *Juniperus* (%3,2), *Pinus* (%3,2), *Euonymus* ve *Thuja* (%2,8); *Chamaecyparis*, *Quercus* ve *Salix* (%2,4); *Cedrus*, *Ficus*, *Fraxinus*, *Picea*, *Populus* (%2) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır. Sahip olduğu özellikler ile Anadolu Üniversitesi Arboretumu doğa eğitimi ve çevre koruma alanında Eskişehir ve çevre iller başta olmak üzere toplumsal bilincin gelişmesi ve biyolojik çeşitliliğin korunmasında çok önemli ve tarihi bir görevi üstlenmektedir.

Anahtar kelimeler: Arboretum, Ağaçlar, Çalılar, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902223350580; Fax.: +902223204910; E-mail: ebitki@gmail.com

1. Giriş

Eğitim, bilimsel çalışmalar ve gözlem yapmak amacıyla ağaç, çalı ve diğer odunsu bitkilerin belli bir alanda yetiştirilip sergilendiği alanlara arboretum adı verilmektedir. Arboretum ağaç, ağaççık veya çalı gibi odunsu bitkilerin yetiştirilmesi için ayrılmış botanik bahçeleridir. Arboretumlar çeşitli odunsu türleri içerebileceği gibi, sadece bir veya birkaç türden oluşabilir. Arboretumlar odunsu bitkilerin biyolojisi, ekolojisi, habitatları hakkında bilgi vermesi yanı sıra, endemik türlerin korunması, egzotik türlerin adaptasyonu gibi konularda da toplumsal bilimcin oluşturulmasına katkıda vermektedir.

Arboretumlar canlı ağaç müzeleri olup, çevre ve toplum yararına çok önemli fonksiyonlar üstlenmektedir. Öğrencilerin anaokulundan başlayarak üniversite düzeyine kadar olan öğrenme dönemlerinde eğitim ve öğretim süreçlerinde açık laboratuvar niteliğindedir. Ayrıca arboretumlar yaşam boyu eğitim kapsamında her yaşta insanın odunsu bitkileri tanıması ve onlar hakkında bilgi sahibi olması konusunda ve toplumda çevre bilincinin gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Diğer taraftan bu alanlar insanların dinlenme gibi rekreatif ihtiyaçlarının da karşılandığı önemli açık alanlardır.

Bu çalışmanın amacı Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nda bulunan bitkilerin listesini çıkarmak, mevcut potansiyelini belirlemek, gelişmesi ve tanıtımına katkıda bulunmaktır.

2. Materyal ve yöntem

Bu çalışmada Anadolu Üniversitesi Yunus Emre Kampüsü çalışma alanı, odunsu bitkiler ise çalışma materyali olarak belirlenmiştir. Arboretumda bulunan bitkiler çeşitli kaynaklar yardımı ile teşhis edilerek [1-7], isimlendirilmiş, numaralandırılmış ve etiketlenmiştir. Bitki üzerine veya yakınına konan etiketlerde bitkinin bilimsel adı, Türkçe adı, biyolojik özellikleri, ekolojik özellikleri, habitatı ve orijini gibi bitkiyi tanımlayan bilgiler karekot içine konmuştur (Şekil 1). Arboretum ziyaretçileri telefonları ile karekot okutarak bitki hakkında her türlü bilgiye ulaşabilirler.



Şekil 1. Anadolu Arboretumu'nda bitki etiketleri

3. Bulgular

Anadolu Arboretumu; Anadolu Üniversitesi Yunus Emre Kampüsü içinde yer almaktadır. Arboretum alanı Yurtiçi Bölge Kumandanlığı arazisininin 180 dönümlük bir kısmının 1964 yılında Eskişehir İktisadi ve Ticari İlimler Akademisi'ne tahsis edilmesi ile oluşmaya başlamıştır. Askeri birlik zamanında başlayan bitkilendirme çalışmaları, akademinin 1968 yılında bu birliğin alanına (Yunus Emre Kampüsü) taşınmasıyla devam etmiştir. Akademinin 1982 yılında Anadolu Üniversitesine bağlanması ile alana çevre ve peyzaj düzenleme kapsamında çok sayıda ve değişik bitki türleri dikilmeye devam etmiştir. Anadolu Üniversitesi Yunus Emre Kampüsü içinde 5000 m²'lik bir alanda, 2017 yılında Arboretuma dönüştürme çalışmaları başlatılmıştır. Bu kapsamda alanda bulunan bitkiler teşhis edilerek uluslararası kriterlere göre etiketlenmiştir. Anadolu Üniversitesi Arboretumu 15 Haziran 2018 tarihinde, Rektör Prof.Dr. Naci Gündoğan tarafından yapılan açılış töreni ile hizmet vermeye başlamıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Anadolu Arboretumu'nun yerleşim planı

Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nda; etiketlenmiş toplam 54 familya ve 108 cinsine ait, toplam 250 tür ve tür altı takson bulunmaktadır (Tablo 1). En fazla takson içeren familyalar sırası ile Rosaceae (%16,8), Cupressaceae (%9,6), Pinaceae (%8,4), Oleaceae (%6), Caprifoliaceae (%5,2), Fagaceae ve Salicaceae (%4,4), Aceraceae, Leguminosae, Moraceae (%3,6); Celastraceae (%2,8), Berberidaceae (%2), Betulaceae (%1,6) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır. Arboretumu'nda en fazla tür ve tür altı taksona sahip cinsler ise *Prunus* (%4,4), *Acer* (%3,6), *Juniperus* (%3,2), *Pinus* (%3,2), *Euonymus* ve *Thuja* (%2,8); *Chamaecyparis*, *Quercus* ve *Salix* (%2,4); *Cedrus*, *Ficus*, *Fraxinus*, *Picea*, *Populus* (%2) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır [8]. Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nda bulunan bitkilerin listesi Tablo 1'de topluca verilmiştir. Bu bitkilerin habitatları incelendiğinde bunların 12 farklı farklı coğrafyadan gelmiş olduğu görülmektedir. Bitkilerin %54'ü egzotik ve %46 Türkiye orijinli olup, Amerika Kıtası (%17), Çin (%34), Japonya (%20), Asya (%19), Avrupa (%9) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 3). Mevcut bitkilerin çok önemli bir kısmı açık alanlarda yetiştirilirken, soğuklara dayanıklı olmayan bazı bitkilerde seralarda yetiştirilmektedir.

Tablo 1. Anadolu Arboretumu bitki listesi

Adı	Familyası	Türkçe adı	Habitatı
<i>Abelia x grandiflora</i>	Caprifoliaceae	Güzellik çalısı	Doğu Çin
<i>Abies alba</i>	Pinaceae	Gümüşi köknar	Güney Avrupa
<i>Abies nordmanniana</i>	Pinaceae	Kafkas köknarı	Türkiye
<i>Acer campestre</i>	Aceraceae	Ova akçaağacı	Türkiye
<i>Acer negunda</i>	Aceraceae	Dişbudak yapraklı akçaağaç	Kuzey Amerika
<i>Acer negundo</i> "Aureomarginatum"	Aceraceae	Alacayapraklı akçaağaç	Kuzey Amerika
<i>Acer palatanoides</i> "Crimson Sentry"	Aceraceae	Kırmızı yapraklı akçaağaç	Avrupa
<i>Acer palmatum</i>	Aceraceae	Elsi akçaağaç	Japonya
<i>Acer palmatum</i> "Dissectum Stella Rosa"	Aceraceae	Kızıltüyüsü japon akçaağacı	Çin
<i>Acer pseudoplatanus</i>	Aceraceae	Dağ akçaağacı	Kafkaslar
<i>Acer rubrum</i>	Aceraceae	Şeker akçaağacı	Kuzey Amerika
<i>Acer tataricum</i>	Aceraceae	Tatar akçaağacı	Güneydoğu Avrupa
<i>Aesculus hippocastanum</i>	Hippocastanaceae	At kestanesi	Türkiye
<i>Ailanthus altissima</i>	Simaroubaceae	Kokar ağaç	Çin
<i>Albizia julibrissin</i>	Leguminosae	Gülibrişim	Tropik Asya
<i>Alnus glutinosa</i>	Betulaceae	Kızılağaç	Türkiye
<i>Amorpha fruticosa</i>	Leguminosae	Yalancı çivit	Kuzeydoğu Amerika
<i>Atriplex halimus</i>	Chenopodiaceae	Deniz semizotu	Güney Avrupa
<i>Berberis julianae</i>	Berberidaceae	Herdemyeşil kadıntuzluğu	Çin
<i>Berberis thunbergii</i> "Atropurpurea"	Berberidaceae	Kırmızı yapraklı kadıntuzluğu	Japonya

Tablo 1. Devam ediyor

<i>Betula pendula</i>	Betulaceae	Akhuş	Türkiye
<i>Betula pendula</i> “Youngii”	Betulaceae	Salkım huş	Türkiye
<i>Bougainvillea glabra</i>	Nyctaginaceae	Begonvil	Brezilya
<i>Buddleia davidii</i>	Buddleiaceae	Kelebek çalısı	Çin
<i>Buxus microphylla</i>	Buxaceae	Osmanlı şimşiri	Japonya
<i>Buxus sempervirens</i>	Buxaceae	Anadolu şimşiri	Türkiye
<i>Calycanthus floridus</i>	Calycanthaceae	Kızılçanak	Kuzey Amerika
<i>Campsis radicans</i>	Bignoniaceae	Acem borusu	Doğu Amerika
<i>Carpinus betulus</i> “Pyramidalis”	Corylaceae	Piramit gürgen	Türkiye
<i>Catalpa bignonioides</i>	Bignoniaceae	Katalpa	Amerika
<i>Cedrus atlantica</i>	Pinaceae	Atlas sediri	Cezayir
<i>Cedrus atlantica</i> “Glaucua”	Pinaceae	Mavi yapraklı atlas sediri	Cezayir
<i>Cedrus deodara</i>	Pinaceae	Himalaya sediri	Afganistan
<i>Cedrus deodara</i> “Pendula”	Pinaceae	Sarkık himalaya sediri	Afganistan
<i>Cedrus libani</i>	Pinaceae	Toros sediri	Türkiye
<i>Cercis siliquastrum</i>	Fabaceae	Erguvan	Türkiye
<i>Cercis siliquastrum</i> “Alba”	Leguminosae	Beyaz çiçekli erguvan	Türkiye
<i>Chaenomeles cathayensis</i>	Rosaceae	Pembe çiçekli japon ayvası	Çin
<i>Chaenomeles speciosa</i>	Rosaceae	Japon ayvası	Çin
<i>Chaenomeles x californica</i>	Rosaceae	Melez japon ayvası	Kaliforniya
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	Cupressaceae	Lavzon yalancı servisi	Kuzey Amerika
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> “Aurea”	Cupressaceae	Altuni lavzon servisi	Kuzey Amerika
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i> “Ellwoodii”	Cupressaceae	Lavzon yalancı servisi	Kuzey Amerika
<i>Cistus laurifolius</i>	Cistaceae	Pinar	Türkiye
<i>Citrus fortunella</i> “Margarita”	Rutaceae	Kız portakalı	Güneydoğu Asya
<i>Citrus limon</i>	Rutaceae	Limon	Çin
<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	Portakal	Çin
<i>Clematis montana</i> var. <i>rubens</i>	Ranunculaceae	Pembe akasma	Çin
<i>Clematis vitalba</i>	Ranunculaceae	Akasma	Türkiye
<i>Colutea arborescens</i>	Leguminosae	Patlangaç	Türkiye
<i>Cornus alba</i> “Elegantissima”	Cornaceae	Alaca yapraklı kızılçık	Çin
<i>Cornus alba</i> “Sibirica”	Cornaceae	Kızılçık çalısı	Asya
<i>Cornus mas</i>	Cornaceae	Kızılçık	Türkiye
<i>Cornus sanguinea</i>	Cornaceae	Demircik	Türkiye
<i>Corylus avellana</i>	Betulaceae	Fındık	Türkiye
<i>Cotinus coggia</i>	Anacardiaceae	Peruka çalısı	Türkiye
<i>Cotoneaster horizontalis</i>	Rosaceae	Yaprakdöken medik	Batı Çin
<i>Cotoneaster lacteus</i>	Rosaceae	Bahçe medığı	Çin
<i>Cotoneaster microphyllus</i>	Rosaceae	Bodur medik	Asya
<i>Crataegus mongyna</i>	Rosaceae	Aliç	Türkiye
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Rosaceae	Geyikdiken	Türkiye
<i>Crataegus oxyacantha</i> “Coccinea Plena”	Rosaceae	Kırmızı çiçekli geyikdiken	Türkiye
<i>Cryptomeria japonica</i>	Taxodiaceae	Kriptomeriya	Japonya
<i>Cryptomeria japonica</i> var. <i>elegans</i>	Taxodiaceae	Zarif kriptomeriya	Japonya
<i>Cupressocyparis leylandii</i>	Cupressaceae	Melez servi	İngiltere
<i>Cupressocyparis leylandii</i> “Variegatus”	Cupressaceae	Alaca yapraklı melez servi	Leighton Hall
<i>Cupressus arizonica</i>	Cupressaceae	Mavi servi	Amerika
<i>Cupressus sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	Cupressaceae	Akdeniz servisi	Türkiye
<i>Cupressus sempervirens</i> var. <i>pyramidalis</i>	Cupressaceae	Piramit servi	Türkiye
<i>Cycas revoluta</i>	Cycadaceae	Yalancı palmye	Japonya
<i>Cydonia oblonga</i>	Rosaceae	Ayva	Türkiye
<i>Elaeagnus angustifolius</i>	Elaeagnaceae	İğde	Amerika
<i>Elaeagnus pungens</i> “Maculata”	Elaeagnaceae	Altın yapraklı kuş iğdesi	Türkiye
<i>Elaeagnus x ebbingei</i>	Elaeagnaceae	Melez kuş iğdesi	Türkiye
<i>Euonymus alatus</i>	Celastraceae	Kırmızı taflan	Japonya
<i>Euonymus europaeus</i>	Celastraceae	İğ ağacı	Türkiye
<i>Euonymus fortunei</i> “Emerald'n Gold”	Celastraceae	Altuni yapraklı bodur iğcik	Japonya
<i>Euonymus fortunei</i> “Gracilis”	Celastraceae	Gümüşü yapraklı bodur iğcik	Japonya
<i>Euonymus japonicus</i>	Celastraceae	Taflan	Japonya
<i>Euonymus japonicus</i> “Aureo-picta”	Celastraceae	Altuni taflan	Japonya
<i>Euonymus japonicus</i> “President Gautier”	Celastraceae	Gümüşü taflan	Japonya
<i>Fagus orientalis</i>	Fagaceae	Doğu kayını	Türkiye

Tablo 1. Devam ediyor

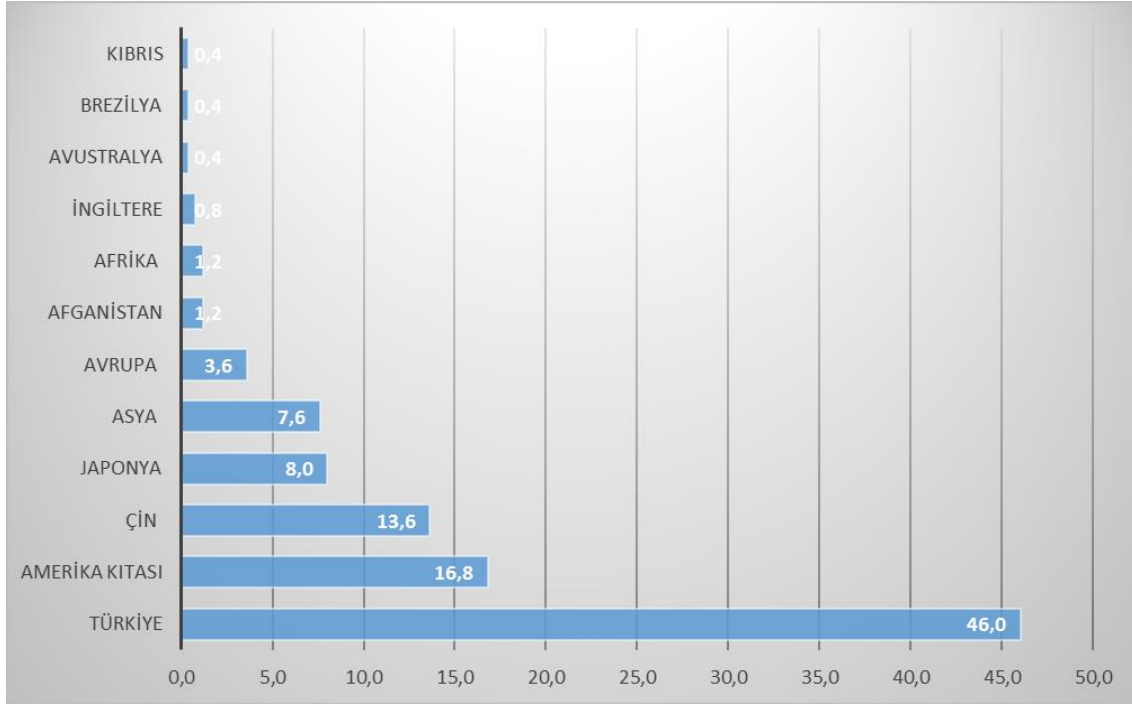
<i>Ficus benjamine</i>	Moraceae	Küçük yapraklı kauçuk	Filipinler
<i>Ficus carica</i>	Moraceae	İncir	Türkiye
<i>Ficus elastica</i>	Moraceae	Kauçuk	Tropik Asya
<i>Ficus elastica</i> “Tricolor”	Moraceae	Alacayapraklı kauçuk	Avustralya
<i>Ficus lyrata</i>	Moraceae	Keman yapraklı kauçuk	Batı Afrika
<i>Forsythia x intermedia</i>	Oleaceae	Altınçanak	Kuzeybatı Çin
<i>Fraxinus angustifolia</i> ssp. <i>oxycarpa</i>	Oleaceae	Dar yapraklı dişbudak	Türkiye
<i>Fraxinus exelsior</i>	Oleaceae	Boylu dişbudak	Türkiye
<i>Fraxinus exelsior</i> “Pendula”	Oleaceae	Sarkık dişbudak	Türkiye
<i>Fraxinus ornus</i> ssp. <i>cilicica</i>	Oleaceae	Çiçekli dişbudak	Türkiye
<i>Fraxinus oxycarpa</i>	Oleaceae	Sivri meyveli dişbudak	Türkiye
<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkgoaceae	Mabet ağacı	Güneydoğu Çin
<i>Gleditsia triacanthos</i> “Sunburst”	Fabaceae	Glediçya	Amerika
<i>Hedera colchica</i> “Sulphur Heart”	Araliaceae	Alacayapraklı orman sarmaşığı	Türkiye
<i>Hedera helix</i>	Araliaceae	Duvar sarmaşığı	Türkiye
<i>Hibiscus rosa - sinensis</i>	Malvaceae	Yaz gülü	Çin
<i>Hibiscus syriacus</i>	Malvaceae	Ağaç hatmi	Çin
<i>Hippophae rhamnoides</i>	Elaeagnaceae	Kum dikenini	Türkiye
<i>Hydrangea macrophylla</i>	Hydrangeaceae	Ortanca	Doğu Asya
<i>Ilex aquifolium</i>	Aquifoliaceae	Çobanpüskülü	Türkiye
<i>Ilex aquifolium</i> “Golden Gem”	Aquifoliaceae	Alaca yapraklı çobanpüskülü	Türkiye
<i>Jasminum officinale</i>	Oleaceae	Yasemin	Türkiye
<i>Juglans regia</i>	Juglandaceae	Ceviz	Türkiye
<i>Juniperus chinensis</i> “Pfizeriana Aurea”	Cupressaceae	Yayvan altuni ardıç	Kuzey Amerika
<i>Juniperus chinensis</i> “Pfizeriana Glauca”	Cupressaceae	Mavi yayvan ardıç	Kuzey Amerika
<i>Juniperus communis</i>	Cupressaceae	Sütun ardıç	Türkiye
<i>Juniperus exelsa</i>	Cupressaceae	Boylu ardıç	Türkiye
<i>Juniperus foetidissima</i>	Cupressaceae	Kokar ardıç	Türkiye
<i>Juniperus oxycedrus</i> ssp. <i>oxycedrus</i>	Cupressaceae	Çakırğa	Türkiye
<i>Juniperus sabina</i>	Cupressaceae	Sabin ardıcı	Türkiye
<i>Juniperus virginiana</i>	Cupressaceae	Kurşunkalem ardıcı	Kuzey Amerika
<i>Kerria japonica</i> “Pleniflora”	Rosaceae	Keriya gülü	Japonya
<i>Koelreuteria paniculata</i>	Sapindaceae	Sabun ağacı	Japonya
<i>Laburnum anagyroides</i>	Fabaceae	Sarisalkım	Avrupa
<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	Defne	Türkiye
<i>Ligustrum ovalifolium</i>	Oleaceae	Geniş yapraklı kurtbağrı	Japonya
<i>Ligustrum ovalifolium</i> “Aureum”	Oleaceae	Alacayapraklı kurtbağrı	Japonya
<i>Ligustrum vulgare</i>	Oleaceae	Kurtbağrı	Türkiye
<i>Liquidambar orientalis</i>	Hamamelidaceae	Anadolu sığla ağacı	Türkiye
<i>Liquidambar styraciflua</i>	Hamamelidaceae	Amerikan sığla ağacı	Kuzey Amerika
<i>Lonicera japonica</i> “Halliana”	Caprifoliaceae	Yeşil dallı hanımeli	Japonya
<i>Lonicera japonica</i> “Repens”	Caprifoliaceae	Kırmızı dallı hanımeli	Japonya
<i>Lonicera nitida</i>	Caprifoliaceae	Sürünücü hanımeli	Batı Çin
<i>Lonicera tatarica</i>	Caprifoliaceae	Tatar hanımeli	Türkiye
<i>Lycium barbarum</i>	Solanaceae	Atlangaç	Çin
<i>Maclura pomifera</i>	Moraceae	Yalancı portakal ağacı	Kuzey Amerika
<i>Mahonia aquifolium</i>	Berberidaceae	Mahonya	Amerika
<i>Mahonia japonica</i>	Berberidaceae	Japon mahonyası	Çin
<i>Mahonia repens</i> “Rotundifolia”	Berberidaceae	Bodur mahonya	Kuzey Amerika
<i>Malus hybrida</i>	Rosaceae	Elma	Asya
<i>Malus x purpurea</i>	Rosaceae	Süs elması	Asya
<i>Morus alba</i>	Moraceae	Ak dut	Doğu Asya
<i>Morus alba</i> “Pendula”	Moraceae	Sarkık dut	Asya
<i>Morus rubra</i>	Moraceae	Kırmızı dut	Kuzey Amerika
<i>Nerium oleander</i>	Apocyanaceae	Zakkum	Türkiye
<i>Olea europaea</i> var. <i>sativa</i>	Oleaceae	Zeytin	Türkiye
<i>Parthenocissus quinquefolia</i>	Vitaceae	Beşlim sarmaşığı	Kuzeydoğu Amerika
<i>Paulownia tomentosa</i>	Scrophulariaceae	Pavlonya	Çin
<i>Philadelphus coronarius</i>	Saxifragaceae	Filbahri	Güney Avrupa
<i>Phillyrea latifolia</i>	Oleaceae	Akçakesme	Türkiye

Tablo 1. Devam ediyor

<i>Photinia x fraseri</i> “Red Robin”	Rosaceae	Alevağacı	Çin
<i>Picea abies</i>	Pinaceae	Avrupa ladini	Avrupa
<i>Picea glauca</i> “Conica”	Pinaceae	Konik ladin	Amerika
<i>Picea omorica</i>	Pinaceae	Balkan ladini	Bosna Hersek
<i>Picea orientalis</i>	Pinaceae	Doğu ladini	Türkiye
<i>Picea pungens</i>	Pinaceae	Mavi ladin	Amerika
<i>Pinus brutia</i>	Pinaceae	Kızılçam	Türkiye
<i>Pinus griffithii</i>	Pinaceae	Ağlayan çam	Afganistan
<i>Pinus nigra ssp. pallasiana</i> var. <i>seneriana</i>	Pinaceae	Ebe karaçam	Türkiye
<i>Pinus nigra ssp. pallasiana</i>	Pinaceae	Anadolu karaçamı	Türkiye
<i>Pinus nigra ssp. pallasiana</i> var. <i>pyramidata</i>	Pinaceae	Ehrami karaçam	Türkiye
<i>Pinus pinea</i>	Pinaceae	Fıstık çamı	Türkiye
<i>Pinus strobus</i>	Pinaceae	Veymut çamı	Kuzeydoğu Amerika
<i>Pinus sylvestris</i> spp. <i>hamata</i>	Pinaceae	Sarıçam	Türkiye
<i>Pittosporum</i> sp.	Pittosporaceae	Yapışkan tohum	Çin
<i>Platanus orientalis</i>	Platanaceae	Doğu çınarı	Türkiye
<i>Polygonum aubertii</i>	Polygonaceae	Türkistan sarmaşığı	Türkistan
<i>Populus alba</i>	Salicaceae	Akkavak	Türkiye
<i>Populus nigra</i> var. <i>italica</i>	Salicaceae	Karakavak	Türkiye
<i>Populus tremula</i>	Salicaceae	Titrek kavak	Türkiye
<i>Populus usbekistanica</i> “Afghanica”	Salicaceae	Asya servi kavağı	Orta Asya
<i>Populus x canadensis</i>	Salicaceae	Kanada kavağı	Kuzey Amerika
<i>Prunus amygdalus</i>	Rosaceae	Badem	Türkiye
<i>Prunus armeniaca</i>	Rosaceae	Kayısı	Çin
<i>Prunus avium</i>	Rosaceae	Kiraz	Türkiye
<i>Prunus cerasifera</i> “Pissardii”	Rosaceae	Kırmızı yapraklı erik	Türkiye
<i>Prunus cerasus</i>	Rosaceae	Vişne	Türkiye
<i>Prunus divaricata</i>	Rosaceae	Yaban eriği	Türkiye
<i>Prunus domestica</i>	Rosaceae	Erik	Türkiye
<i>Prunus laurocerasus</i>	Rosaceae	Karayemiş	Türkiye
<i>Prunus mahaleb</i>	Rosaceae	Mahlep	Türkiye
<i>Prunus serrulata</i>	Rosaceae	Süs kirazı	Çin
<i>Prunus serrulata</i> “Kanzan”	Rosaceae	Katmerli süs kirazı	Asya
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Pinaceae	Duglas	Kuzey Amerika
<i>Punica granatum</i>	Punicaceae	Nar	Türkiye
<i>Pyracantha coccinea</i>	Rosaceae	Ateşdiken	Türkiye
<i>Pyracantha rogersiana</i> “Flava”	Rosaceae	Sarı meyveli ateşdiken	Batı Çin
<i>Pyrus hybrida</i>	Rosaceae	Kültür armutları	Çin
<i>Quercus cerris</i>	Fagaceae	Türk meşesi	Türkiye
<i>Quercus ilex</i>	Fagaceae	Pınal meşesi	Türkiye
<i>Quercus ithaburensis</i> ssp. <i>macrolepis</i>	Fagaceae	Anadolu palamut meşesi	Türkiye
<i>Quercus pubescens</i>	Fagaceae	Tüylü meşe	Türkiye
<i>Quercus robur</i>	Fagaceae	Saplı meşe	Türkiye
<i>Quercus robur</i> “Fastigiata”	Fagaceae	Piramidal meşe	Kuzey Amerika
<i>Rhus coriaria</i>	Anacardiaceae	Derici sumağı	Türkiye
<i>Rhus typhina</i>	Anacardiaceae	Sumak	Kuzey Amerika
<i>Robinia pseudoacacia</i>	Leguminosae	Yalancı akasya	Kuzey Amerika
<i>Robinia pseudoacacia</i> “Umbraculifera”	Leguminosae	Top akasya	Kuzey Amerika
<i>Robinia x margaretta</i> “Casque Rouge”	Leguminosae	Kırmızı çiçekli akasya	Kuzey Amerika
<i>Rosa canina</i>	Rosaceae	Kuşburnu	Türkiye
<i>Rosa damascena</i>	Rosaceae	Isparta gülü	Türkiye
<i>Rosa foedta</i>	Rosaceae	Sarı yaban gülü	Türkiye
<i>Rosa</i> sp.	Rosaceae	Gül Türleri	Türkiye
<i>Rubus caesius</i>	Rosaceae	Böğürtlen	Türkiye
<i>Rubus idaeus</i>	Rosaceae	Ahududu	Türkiye
<i>Rubus sanctus</i>	Rosaceae	Böğürtlen	Türkiye
<i>Salix alba</i>	Salicaceae	Aksöğüt	Türkiye
<i>Salix babylonica</i>	Salicaceae	Salkım söğüt	Türkiye
<i>Salix caprea</i>	Salicaceae	Keçi söğüdü	Türkiye
<i>Salix caprea</i> “Pendula”	Salicaceae	Sarkık keçi söğüdü	Türkiye

Tablo 1. Devam ediyor

<i>Salix eleagnos</i>	Salicaceae	İğde yapraklı söğüt	Türkiye
<i>Salix matsudana</i> var. <i>tortuosa</i>	Salicaceae	Tribişon söğüdü	Türkiye
<i>Sambucus ebulus</i>	Caprifoliaceae	Bodur mürver	Türkiye
<i>Sambucus nigra</i>	Caprifoliaceae	Siyah mürver	Türkiye
<i>Sambucus nigra</i> var. <i>aurea</i>	Caprifoliaceae	Altuni mürver	Türkiye
<i>Sophora japonica</i>	Leguminosae	Japon soforası	Çin
<i>Sophora japonica</i> “Pendula”	Fabaceae	Sarkık japon soforası	Çin
<i>Sorbaria sorbifolia</i>	Rosaceae	Beyaz püskül	Doğu Asya
<i>Sorbus aria</i>	Rosaceae	Ak üvez	Türkiye
<i>Sorbus aucuparia</i>	Rosaceae	Kuş üvezi	Türkiye
<i>Spiraea cantoniensis</i>	Rosaceae	Dar yapraklı ispir	Çin
<i>Spiraea japonica</i> “Little Princess”	Rosaceae	Japon ispiri	Japonya
<i>Spiraea salicifolia</i>	Rosaceae	Söğüt yapraklı ispir	Türkiye
<i>Spiraea x vanhouttei</i>	Rosaceae	Beyaz çiçekli ispir	Çin
<i>Symphoricarpos albus</i>	Caprifoliaceae	Beyaz inci	Amerika
<i>Symphoricarpos orbicularis</i>	Caprifoliaceae	Pembe inci	Amerika
<i>Syringa vulgaris</i>	Oleaceae	Leylak	Türkiye
<i>Syringa vulgaris</i> “Mme Felix”	Oleaceae	Beyaz leylak	Türkiye
<i>Syringa vulgaris</i> “Mrs Edward Harding”	Oleaceae	Kırmızı leylak	Türkiye
<i>Tamarix gallica</i>	Tamaricaceae	İlgın	Avrupa
<i>Tamarix tetrandra</i>	Tamaricaceae	Pembe çiçekli ılgın	Kıbrıs
<i>Taxus baccata</i>	Taxaceae	Porsuk	Türkiye
<i>Taxus baccata</i> “Fastigiata Aurea”	Taxaceae	Altuni piramidal porsuk	Türkiye
<i>Taxus baccata</i> “Fastigiata”	Taxaceae	Piramidal porsuk	Türkiye
<i>Thuja occidentalis</i>	Cupressaceae	Batı mazısı	Kuzey Amerika
<i>Thuja occidentalis</i> “Columna”	Cupressaceae	Piramidal batı mazısı	Kuzey Amerika
<i>Thuja occidentalis</i> “Europa Gold”	Cupressaceae	Altuni batı mazısı	Kuzey Amerika
<i>Thuja orientalis</i>	Cupressaceae	Doğu mazısı	Asya
<i>Thuja orientalis</i> “Aurea Nana”	Cupressaceae	Altuni doğu mazısı	Doğu Asya
<i>Thuja orientalis</i> “Pyramidalis Aurea”	Cupressaceae	Piramidal altuni doğu mazısı	Doğu Asya
<i>Thuja plicata</i>	Cupressaceae	Boylu mazi	Amerika
<i>Thujopsis dolobrata</i>	Cupressaceae	Balta yapraklı mazi	Japonya
<i>Tilia platyphyllos</i>	Tiliceae	Büyük yapraklı ıhlamur	Türkiye
<i>Tilia rubra</i>	Tiliaceae	Kafkas ıhlamuru	Türkiye
<i>Tilia tomentosa</i>	Tiliaceae	Gümüşi ıhlamur	Türkiye
<i>Trachycarpus fortunei</i>	Arecaceae	Yelpaze palmiye	Çin
<i>Ulmus glabra</i>	Ulmaceae	Dağ karaağacı	Türkiye
<i>Ulmus glabra</i> “Pendula”	Ulmaceae	Sarkık dağ karaağacı	Türkiye
<i>Ulmus glabra</i> “Fastigiata”	Ulmaceae	Piramidal dağ karaağacı	Türkiye
<i>Ulmus pumila</i>	Ulmaceae	Sibirya karaağacı	Türkiye
<i>Viburnum lantana</i>	Caprifoliaceae	Tüylü kartopu	Türkiye
<i>Viburnum opulus</i>	Caprifoliaceae	Yaban kartopu	Türkiye
<i>Vitis vinifera</i> ssp. <i>vinifera</i>	Vitaceae	Asma	Türkiye
<i>Washingtonia filifera</i>	Arecaceae	Palmiye	Kaliforniya
<i>Washingtonia robusta</i>	Arecaceae	Boylu palmiye	Kuzeybatı Meksika
<i>Weigela florida</i>	Caprifoliaceae	Vegelya	Çin
<i>Wisteria sinensis</i>	Leguminosae	Morsalkım	Çin
<i>Yucca recurvifolia</i>	Agavaceae	Yukka	Amerika



Şekil 3. Anadolu Arboretumu'nda bulunan bitkilerin orijinlerine göre dağılımı

4. Sonuçlar ve tartışma

Yapılan çalışma sonunda Anadolu Üniversitesi Arboretumu'nda; etiketlenmiş toplam 54 familya ve 108 cinse ait, toplam 250 tür ve tür altı takson bulunduğu belirlenmiştir. Arboretumda yetişen ağaç ve çalılar, bu çalışmada yer alan bitkilerle sınırlı olmayıp çok daha fazladır. Ancak bazı nedenlerle tür ve sayı sınırlı kalmıştır. Yapılacak ilave çalışmalar ile bu sayının 300'ün üzerine çıkartılabileceği açıkça görülmektedir. Burada bulunan bitkilerden bazıları Türkiye florasında doğal olarak bulunmalarına ve bahçe sanatı açısından büyük bir potansiyel taşımalarına rağmen, henüz tanınmamakta, bunun sonucu olarak park ve bahçelerde yaygın bir şekilde yetiştirilmemektedir. Arboretum her yaş grubuna yönelik ayrı bir eğitim programı düzenleyerek doğa koruma ve çevre eğitimi açısından daha etkin hale gelebilir. Ağaç ve çalılar kent ekosistemine çok yönlü katkılar sağlaması yanında bazen dolaylı olarak kendileri de birer kirletici unsur olarak karşımıza çıkmaktadır [9]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle bazı bitki türlerinin polenlerinin alerjik olduğu, bazılarının ise zehirli olabileceği bilinmektedir. Anadolu Arboretumu aynı zamanda kent içi ve çevresinde, yeşil alan fonksiyonu da görmekte şehrin mikro iklimini etkileme, hava kirliliğini önleme, insanların fiziksel sağlığını koruma gibi fonksiyonlarında üstlenmektedir.

Türkiye'de; Atatürk Arboretumu (İstanbul), Yunussemre Arboretumu (Fethiye- Köyceğiz), Süleyman Demirel Arboretumu (Adana), Kavaklı Orman İşletme Şefliği Arboretumu (Zonguldak-Yenice) ve Karaca Arboretumu (Yalova) [10], Kovada Çayı Arboretumu gibi sayılı miktarda arboretumdan bahsedilebilir. Bu arboretumlara 2018 yılında Anadolu Üniversitesi Arboretumu ilave olmuştur. Ayrıca bunlar dışında Kahramanmaraş, Antalya ve diğer bazı illerde de arboretum kurma çalışmaları devam etmekte olduğu bilinmektedir.

Arboretumda *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* var. *pyramidata* (Ehrami karaçam) gibi Türkiye'nin endemik bitkileri yer alırken, *Ginkgo biloba* (Mabet ağacı) gibi rölik endemik (yaşayan fosil) bitkiler; *Cotinus cogyria* (Peruka çalısı) ve *Crataegus mongyna* (Alıç) gibi tıbbi bitkiler yer almaktadır. Farklı ülke ve habitatlara ait olan bu bitkiler etnobotanik açıdan da önemli değerler taşımaktadır. Eskişehir'de yetiştirilen ağaç ve çalılarının kentsel ekoloji açısından değerlendirilmesine yönelik bazı çalışmalar bulunmaktadır [5, 9]. Arboretumda bulunan bitkiler ilk kez bilimsel normlara göre etiketlenerek ziyaretçilere 2018 yılında hizmet vermeye başlamıştır. Arboretumda bitkilerin etiketlenmiş olması ziyaretçilerin cep telefonlarına indirecekleri karekod okuyucular sayesinde bitkiler hakkında kolayca bilgi sahibi olmalarına imkanı sağlamaktadır. Ayrıca Arboretum içinde ziyaretçilerin dinlenme ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla oturma gurupları ve kafeterya yer almaktadır. Eskişehir'de halen bilimsel anlamda bir Botanik Bahçesi bulunmamaktadır. Dolayısı ile Anadolu Arboretumu doğa eğitimi ve çevre koruma alanında Eskişehir ve çevre iller başta olmak üzere toplumsal bilincin gelişmesinde ve biyolojik çeşitliliğin korunmasında çok önemli ve tarihi bir görev üstlenmektedir.

Kaynaklar

- [1] Lanzara, P., Pizzetti, M. (1977). Guide to Trees, Simon and Schuster Inc. New York.
- [2] Heywood, V. H. (1982). Popular encyclopedia of plants, Cambridge Univ. Press Cambridge.
- [3] Yaltrık, F. (1988). Dendroloji: Cilt 1-II. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- [4] Beckett, K. A. (1983). The concise encyclopedia of garden plants. Harpercollins.
- [5] Yücel, E., Yaltrık, F., & Öztürk, M. (1995). Süs Bitkileri (Ağaçlar ve Çalılar) Ornamental, Plants (Trees and Shrubs), Anadolu Üniv., Eskişehir.
- [6] Yücel, E. (2001). Eskişehir Yöresi Yaban Güllerinin (*Rosa* spp.) Doğal Yayılışı ve Ekolojik Özellikleri. *A.Ü. Fen Fakültesi Derg.*, 6, 15-32.
- [7] Yücel, E. (2005). Ağaçlar ve Çalılar 1. Türmatsan, İstanbul.
- [8] Yücel, E. (2019). Anadolu Arboretumu'nun tarihçesi ve bitkileri, Ulusal Botanik Bahçeleri, Arboretumlar, Herbaryumlar ve Botanik Müzeleri Çalıştayı, 18-21 Nisan 2019 Düzce, Türkiye, Abstract Book, 49.
- [9] Yücel, E. (1992). Eskişehir'de yetiştirilen ağaç ve çalılarının kentsel ekoloji açısından değerlendirilmesi. *AÜ Fen Edebiyat Fakültesi Dergisi*, 4(1), 93-118.
- [10] Şat, B. (2002). Doğa koruma ve çevre eğitimi açısından arboretumların işlevleri ve Atatürk arboretumu. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 56(2), 253-270.



The effects of various carbohydrates and tannic acid on the food consumption and growth performance of *Uresiphita gilvata* (Lepidoptera: Crambidae)

Ender ALTUN¹, Mahmut BİLGENER¹ Nurver ALTUN^{2*1}
ORCID: 0000-0001-6072-2302; 0000-0001-7883-6973; 0000-0002-2657-9263

¹ Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey
² Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, Turkey

Abstract

The effects of carbohydrates and tannin on the development and food preferences of *Uresiphita gilvata* larvae were investigated in this study. In addition, with the addition of tannin, the importance of plant-herbivore co-evolution in the food choice of the larvae was mentioned. For this reason, thirteen different artificial diets were prepared. Each diet contains sucrose, glucose, galactose, maltose, fructose, arabinose, mannose, or starch at the same concentration. To investigate the effect of tannic acid, 5 % tannic acid was added to the diets each containing sucrose, starch, glucose or maltose at the same concentration. According to the results of the study, sucrose was consumed by larvae more than glucose and fructose. However, the maximum food consumption of *U. gilvata* larvae was on the diet containing arabinose and their minimum consumption was on the diet containing mannose. Galactose is more consumed by larvae. However, intake galactose can not converted to pupal lipid by larvae. The addition of tannin to the diet reduced the amount of consumption of diet the dry pupal weight and lipid amount of pupae. However, the addition of tannin to the diet increased the amount of protein and extended the development time of pupae.

Key words: carbohydrates, *Uresiphita gilvata*, tannin, plant-insect interaction, feeding

----- * -----

Çeşitli karbonhidratlar ve tanik asidin *Uresiphita gilvata* (Lepidoptera: Crambidae)'nın besin tüketimi ve gelişme performansına etkileri

Özet

Bu çalışmada, *Uresiphita gilvata* larvalarının besin tercihi ve gelişiminde karbonhidratların ve tanenin etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, tanen ilavesiyle larvaların besin tercihinde bitki-herbivor birlikte evrimleşmesinin önemine değinilmiştir. Bu amaçla, 13 farklı yapay diyet hazırlanmıştır. Herbir diyet aynı konsantrasyonda sükröz, galaktoz, glikoz, maltöz, fruktoz, arabinoz, mannoz ya da nişasta içermektedir. Tanenlerin etkisini incelemek için aynı konsantrasyonda sükröz, nişasta, glikoz veya maltöz içeren diyetlere %5 tanen ilavesi yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, larvalar sükrözü, glikoz ve maltözden daha fazla tüketmiştir. Fakat, *U. gilvata* larvaları en fazla arabinoz içeren diyeti, en az ise mannoz içeren diyeti tüketmiştir. Galaktoz içeren diyet fazla tüketilmesine rağmen larva tarafından dönüştürülemediği görülmüştür. Diyete tanen ilavesiyle besin tüketim miktarı, pupa kuru ağırlığı, pupa lipid miktarı azalmıştır. Fakat, pupa protein miktarı artmış, gelişim süresi de uzamıştır.

Anahtar kelimeler: karbonhidrat, *Uresiphita gilvata*, tanen, bitki-böcek ilişkisi, beslenme

1. Introduction

The host preference and the performance of the insect communities are determined by the host plants' qualities [1]. Host plants' qualities are depended upon the plants' protein, carbohydrate, and water contents, along with their secondary metabolites contents [2]. Carbohydrates that contribute to the structures and functions of insect tissues are principal classes of organic compounds for insects and other organisms. In addition to hemolymph of insects,

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +904642236126; Fax.: +904642234019; E-mail: nurver.altun@erdogan.edu.tr

carbohydrates are found in the nucleus, cytoplasm, and cell membrane of all cells [3]. They are also used as a nutritional source and general energy source for insects especially in their later larval stages [4-5] which stored them as glycogen and lipids. Feeding with carbohydrate-rich foods contributes to the survival of adults in diapause and the longevity of heterotroph individuals [6]. Basically, glucose, fructose, and sucrose are indispensable carbohydrates as nutritional components for many insect species. But, there are differences in the use of these nutritional carbohydrates among insect species [7]. In addition, some carbohydrate compounds may play a role as a nutritional stimulant for some insect species. Nevertheless, the same carbohydrates may be a nutritional deterrent for other insect species. The nutritional deterrents cannot be completely hydrolyzed or absorbed by some insect individuals [3].

Also, secondary metabolites are very important factors in choosing host plants for feeding and oviposition for insects and various plant secondary metabolites are produced for defensive purposes against herbivores in plant-herbivore relationships. As a secondary metabolite, tannins are the most common of phenolic compounds produced by plants [8]. They are accumulated at much lower levels in herbaceous plants than woody dicotyledons. Tannins can bind a wide variety of natural polymeric compounds in vitro, including carbohydrates and lipids [8]. Ingested tannins in plant foods can bind surfactants and can cause a nutritionally significant loss of essential fatty acids [8]. They also affect herbivores by inhibiting insect enzymes. Tannins in an artificial insect diet can be caused a significant decrease in larval performance that is consistent with decreased protein digestion. However, some insect species may have ability to tolerate ingested tannins. The ability of insects to tolerate ingested tannins comes from a variety of biochemical and physical adaptations in their guts, including surfactants, high pH, antioxidants, and a protective peritrophic envelope that lines the midgut [8].

Uresiphita gilvata F. (Crambidae: Lepidoptera) is widely found in Europe, North Africa and in South Africa in Namibia [9]. The ecological importance of this species is the distribution in the Kızılırmak delta. The Kızılırmak Delta in the Central Black Sea region of Turkey is defined as a Ramsar Area by virtue of its natural habitats and rich biodiversity. Besides playing an important part in both achieving ecological food chains and protecting biological diversity, wetlands are ecosystems that make significant contributions to the economy of regions and countries [10]. The larvae of *U. gilvata* feed on various low-growing herbaceous plants, including *Genista*, *Cytisus* and *Ulex*. Therefore, this insect species is important to maintain ecological diversity.

As pointed out above, carbohydrates may play a role as phagostimulants or deterrents in insects, they are also energetic in their reproductive and developmental processes. Every insect species has been evolved a different adaptation to different carbohydrates. Insect deterrent carbohydrate cannot be completely hydrolyzed or absorbed by insect species. Tannins may decrease protein digestion in insects' guts. Therefore, in this study, the effect of carbohydrate varieties on food consumption and development of this species will be examined. Although there are many woody and herbaceous plants in the habitat of the species, *U. gilvata* larvae are fed with herbaceous plants. Woody plants protect themselves with secondary metabolites especially tannins. So, in this study; it can be explained that the larvae prefer to feed on herbaceous plant rather than woody plants by adding tannic acid to the diet. Also, which kind of carbohydrate is a deterrent effect on feeding the species can be determined?

2. Materials and methods

2.1. Insects and Experimental Chambers

U. gilvata larvae were collected from the Kızılırmak Delta in 2014 while they were feeding on their natural host plant *Sophora alopecuroides* L. (Fabaceae). The collected larvae were fed on an agar based artificial diet originally designed by Yamamoto [11] until the final instar in the laboratory. Immediately upon molting to the final instar, the individuals were weighed in 0.0001 mg sensitive scale; then each one was placed singly into a plastic cup with a cover. Both the culture and the experimental chambers were kept at the constant temperature at 25 ± 1 °C, 12h: 12h light-dark regime and 65 ± 5 % RH.

2.2. The Artificial Diets

The artificial diet menu developed by Yamamoto [11] was used as the control diet and modified to obtain experimental diets. Sucrose (3 %) was used as a carbohydrate ingredient in Yamamoto's diet. We used one of the carbohydrates (glucose, galactose, maltose, fructose, arabinose, mannose, starch) instead of sucrose in the same concentration in each experimental artificial diets. One of the experimental diets was not contained any added carbohydrate source. By adding an amount of 5 % of tannic acid of total dry weight to the artificial diet; four different artificial diets were prepared to investigate the effects of tannic acid with sugars. Each of these artificial foods having tannic acid contained one of different carbohydrates (sucrose, maltose, glucose or starch). Totally, thirteen experimental artificial diets were prepared this way and were used to the last instar larvae of *U. gilvata* in the experiment chamber.

2.3. Experimental Protocol

The weight of each of the last instar larva was measured at the beginning of experimental feeding. Each food block prepared as described above was pre-weighed before being presented to the larva for each treatment. A total of ten replicates was used for each diet treatment. Every day, any uneaten food by the larvae remaining in the larval chamber was collected and replaced with fresh pre-weighed food block. The uneaten food left by the larva from each feeding chamber was collected separately and dried in an oven (50 °C) and weighed after it had reached a constant dry weight. Each larva was also weighed daily. This procedure was repeated until all of the larvae entered the pupal stage [12].

2.4. Pupal Lipid and Protein Analyses

The total lipid amount in each pupa was calculated by modifying from Loveridge (1973) [13]. The total amount of lipids stored in each pupae was determined with chloroform extraction by three times, 24-h changes of chloroform [13]. At the end of the third chloroform wash they were re-dried and re-weighed to calculate lipid content.

The lipid-free pupae were analyzed for their nitrogen content using Thermo Scientific Flash 2000 series-NCS analyzer instrument by Dumas method [14]. Dried samples weighed approximately 2.5 mg in tiny containers. Samples introduced into the combustion reactor via the Thermo Scientific™ MAS Plus Autosampler with the oxygen determined by the proprietary Thermo Scientific OxyTune® feature. It allows the automated evaluation of the oxygen needed for combustion, according to the weight and nature of the sample. After combustion, the produced gases are carried by a helium flow to a second reactor filled with copper, then swept through CO₂ and H₂O traps, a GC column. Finally they are detected by a Thermal Conductivity Detector. At the end of this process, the amounts of % nitrogen were multiplied by the constant of 6.25 to convert to the crude protein quantities [15].

2.5. Statistical Analysis

The amount of food consumption by each larva fed on each artificial diet, the pupal dry weight, protein and lipid amounts in the pupae were analyzed statistically using the SPSS 17 version. A normality test was performed to determine whether the variables were normally distributed. Then ANOVA and then TUKEY test were performed to determine whether the variables differed. A Pearson correlation test was performed to determine whether there was an association between variables.

3. Results

There was a clear effect of different carbohydrates and tannin on the food consumption and growth performance of larvae (Figure 1). As a remarkable result; among the tannin-free diets, it was determined that the most consumption amount was found in the larvae fed with the dietary intake of arabinose. The minimum consumption is in the diet containing mannose (Figure 1). According to the results of the ANOVA test, differences were found between consumption quantities of the different food types ($F=222149,93$, $p<,001$). According to the TUKEY test results, the consumption amounts of the larvae on the artificial diets were statistically different from each other (Figure 1).

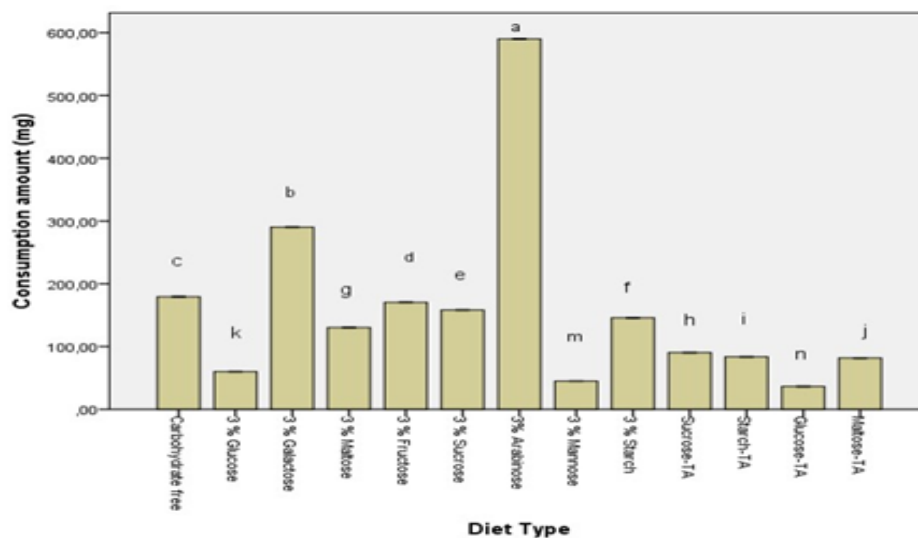


Figure 1. Food consumption on different artificial diet (mg). *Diets with the same letter are not significantly different

Larval diet treatment had a significant effect on pupal dry weight (ANOVA: $F=6059.47$, $p<0.01$). The highest dry weight of pupa in diets containing no secondary metabolite was determined in the diet containing mannose. The lowest pupae is dry weight in the galactose-containing diet (Figure 2). Although the consumption of larvae fed on glucose-containing diets was low, it is noteworthy that the pupae dry weight was high. According to the results of TUKEY test, dry weight of pupa in all diets, except for maltose + T; sucrose + TA and starch + TA, diet is different from each other (Figure 2). Pearson correlation test results show that there is a weak relationship between food consumption and pupa dry weight ($R=0.376$; $P<0.01$).

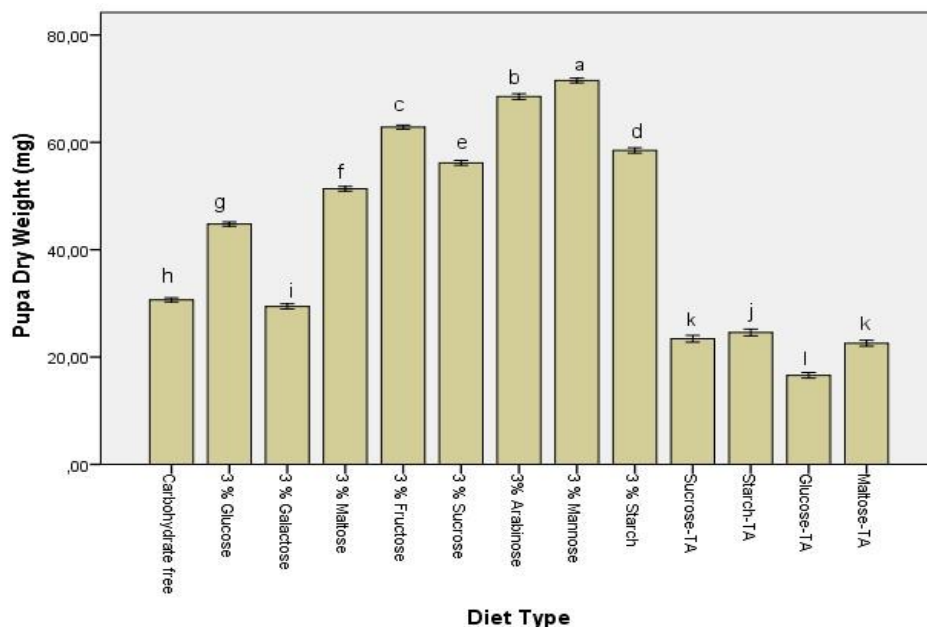


Figure 2. Pupa dry weight on different artificial diet (mg). *Diets with the same letter are not significantly different

When the pupal protein contents were calculated, the highest value was obtained with the pupae of the larvae fed on the artificial diet containing starch and the lowest value was measured as expected in the pupae of the larvae fed on the artificial diet having no carbohydrate. The lowest value was determined on the artificial diet containing glucose (Figure 3). The results of the ANOVA test show that there is a difference between the amounts of pupae protein in the treatments ($F=214.34$; $p<0.01$).

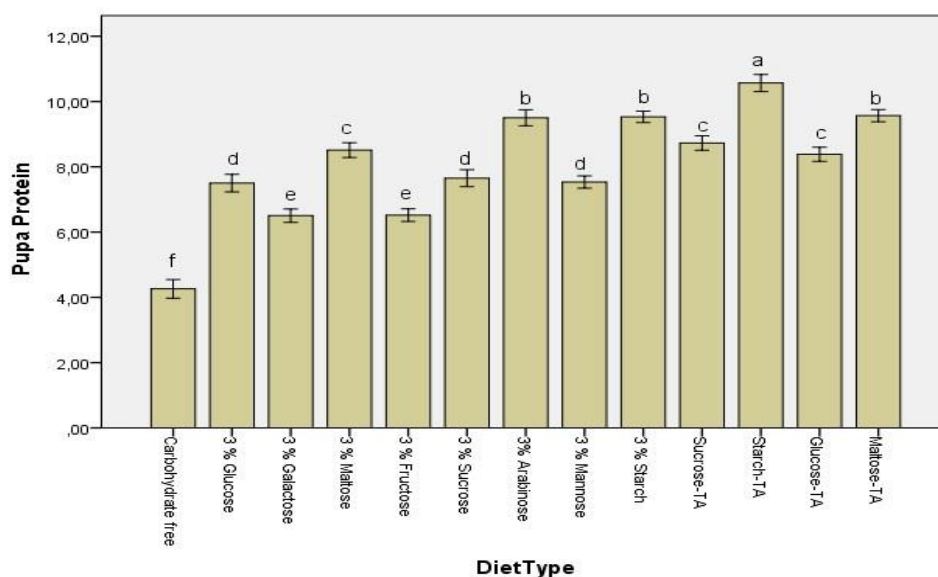


Figure 3. Pupa crude protein on different artificial diet. *Diets with the same letter are not significantly different

Among the tannin-free diets, the highest pupal lipid amount was determined for larvae consuming galactose and the lowest pupae lipid amount was determined for glucose-consuming larvae. (Figure 4). A significant difference was determined between the amounts of pupae lipids of larvae fed on different artificial diets (ANOVA: $F=461.62$;

$p < 0.01$). According to the results of the TUKEY test, the pupae lipid amounts for larvae consuming arabinose, mannose or glucose + TA do not differ from each other. Similar results have been found for diets containing maltose + TA, starch + TA, and fructose, maltose or starch. According to Pearson correlation test results, there is a weak negative correlation between the amount of pupae lipid and food consumption ($R = -0.233$; $p < 0.01$). There is a weak positive correlation between the amount of pupae lipid and pupal protein amount ($R = 0.280$; $P < 0.01$). Similarly, it was determined that the pupa dry weight affects the amount of pupa lipid positively ($R = 0.0489$; $p < 0.01$).

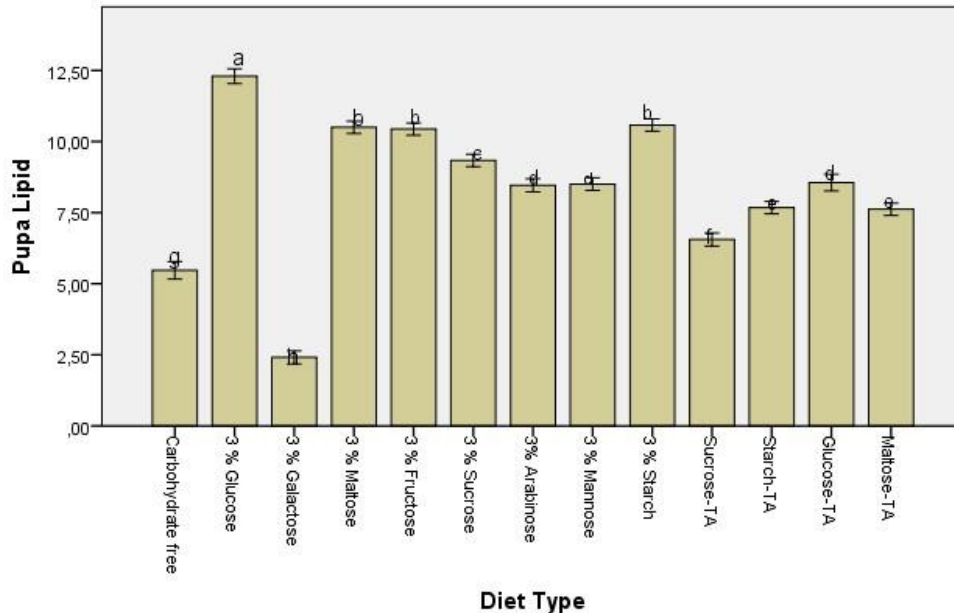


Figure 4. Pupa lipid amount on different artificial diet (mg). *Diets with the same letter are not significantly different

The duration of larval development varies between artificial diets (ANOVA: $F = 166.09$; $P < 0.01$). Among tannic acid free diet, it was determined that the longest larval stage length was in the larvae fed on the artificial diet containing no carbohydrate; the shortest larval period was in the larvae fed on the artificial diet containing mannose (Figure 5). The analyses of these data by TUKEY test showed that there was no significant difference between the developmental stage length of the larvae fed on the artificial diets containing mannose or arabinose. Similarly, there was no difference between the length of larval stage fed on the artificial diets containing arabinose or galactose. The developmental stages of the larvae fed on the artificial diets containing mannose or galactose were different from each other (Figure 5).

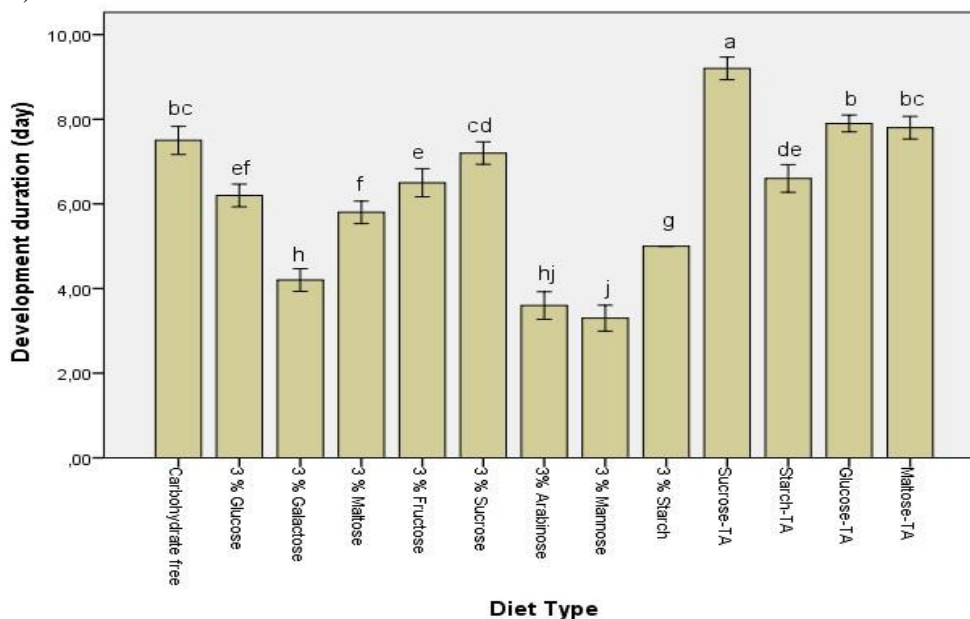


Figure 5. Larval development duration on different artificial diet. *Diets with the same letter are not significantly different

A Pearson correlation test results show that there is a negative correlation between food consumption and development duration ($R=-0.0484$; $p<0.01$). It was found out that as the food consumption amount decreased, the duration of growth increased. Similarly, there was a negative correlation between pupal dry weight and development duration ($R=-0.665$; $p<0.01$). As the duration of the larval development was prolonged, the pupae weight were decreased.

It was determined that the amount of food consumption, pupa dry weight, and pupa lipid amount decreased with the addition of tannic acid to artificial diet. However, the amount of pupa protein increased with the addition of tannic acid, and the development time was prolonged.

4. Conclusions and discussion

In the literature, sucrose is indicated as a more preferred carbohydrate than glucose and fructose [16; 17; 18]. In our study, sucrose was consumed more than glucose and fructose. However, it cannot be said that glucose is more preferred by *U. gilvata* larvae than fructose. Also, the fructose consumption or the arabinose consumption is higher than the sucrose consumption by *U. gilvata* larvae. Therefore, the stimulatory effect of arabinose and fructose to *U. gilvata* larvae may be greater than that of sucrose. Also, our results differ from the literature. Many studies have pointed out that some carbohydrates act as a phagostimulants to insects [18; 19]. The continuation of feeding depends on the continuation of feeding stimulants [19]. The more stimulating the effect, the more nutrient consumption will be too much [19]. Fructose is a feeding stimulant for many insects. Jiang (2015) [20] stated that D-fructose stimulates the gustatory receptor in antennae. Therefore, fructose has also been a feeding stimulant for *U. gilvata* larvae. It has been determined that the pupal lipid ratios of the larvae fed with fructose are also high. Fructose has effects on glycogenesis and several lipogenic enzyme systems [21]. Therefore fructose may have stimulated lipid storage in larvae.

Although arabinose is a sugar which is toxic to many insect species and can be used as an insecticide [22], interestingly, *U. gilvata* larvae more consume. Carbohydrates which have toxic effects cause changes in the insect cuticula, dry the cuticula or block the spiracles and cause them to suffocate [23]. High concentrations of arabinose play as lectin in members of the Solanaceae family and are not digested by insects [24], even if carbohydrates have a toxic effect for the development of insects, sugar transport across the gut epithelium into their cells with sugar transport molecules [25]. No toxic effect of arabinose on *U. gilvata* larvae was detected. The larvae may have used the arabinose to complete their development.

Some carbohydrates could be feeding deterrents to insects [3]. The deterrent carbohydrates cannot be hydrolyzed or absorbed in the insects' guts. But some carbohydrates can be absorbed but not metabolized in the insects' bodies. According to our results, galactose could be a feeding stimulant for the *U. gilvata* larvae, but it may not be metabolized in their body. Because galactose is converted to galactitol [3]. This alcohol may be metabolized by *U. gilvata* larvae and accumulates in the hemolymph.

Although *U. gilvata* larvae consumed the mannose-containing artificial diet quite low, the pupae dry weight turned out to be the highest on the artificial diet containing this sugar. Another remarkable result is that the developmental stage length does not differ from that of the larvae fed on the arabinose-containing artificial diet, which had the highest amount of consumption. Mannose may be absorbed and used by *U. gilvata* larvae although it was consumed in small quantity.

It is noteworthy that the consumption of the glucose-containing artificial diet by *U. gilvata* larvae was low, but especially the pupae lipid content was quite high. Circulating glucose in the hemolymph is rapidly converted into trehalose in the fat body by the enzyme trehalose-6-phosphate synthase [26]. Glucose is stored as glycogen in a polymeric form in animal bodies. Glycogen is synthesized from UDP-glucose mainly derived from dietary carbohydrates or amino acids. UDP-glucose can be used for the synthesis of either glycogen or trehalose, the circulating sugar in the hemolymph. When fat body trehalose reaches a certain level, its synthesis is inhibited, and UDP-glucose is used for glycogen synthesis. Lipids are the main fat body components, and more than 90 % of the lipids stored are triglycerides. Triglycerides are synthesized from dietary carbohydrates, fatty acids, or proteins [26]. Therefore, the excess amount of pupal lipids fed on the glucose-containing artificial diets may be converted to the glucose into the fat body.

It has been determined that the consumption of *U. gilvata* larvae fed on the carbohydrate-free artificial diet was in the 3rd rank following those artificial diet containing arabinose or galactose. It is remarkable that the pupal dry weight, protein and lipid contents in pupal body were quite low, the development period length was longer on this diet. Therefore, it can be concluded that carbohydrate is essential for the development of *U. gilvata* larvae.

According to our results, there is a negative correlation between the amount of consumed food and the duration of development. Insects have the capacity to tolerate the decline in nutrient concentrations. The decrease in the nutrient concentrations is tolerated by *U. gilvata* larvae, either by increasing the food consumption [27] or by changing the food use efficiency. *U. gilvata* larvae may have increased the consumption of the carbohydrate-free artificial diet to provide the needed nutrients. Low pupal dry weight, low protein and lipid content can be caused by using the protein from the diets as an energy source through glycogenesis to meet the carbohydrate needs of the larvae [12]. Nash and Chapman

[28] suggested that carbohydrates, especially starch, lactose, maltose, and glucose, have no effect on the development length of the larvae. Our results differ from that of Nash and Chapman's suggestion in this respect. The correlation results indicating a negative relationship between the duration of development and the pupal dry weight. The larvae would spend more energy on feeding as the duration of the development increases. This may have caused the pupal dry weight to decrease.

When tannin was added to the artificial diets containing different carbohydrates at a concentration of 5 %, the food consumption by the larvae was reduced compared to the artificial diet containing the same carbohydrates without tannin. In herbivores that are not adapted to tannins as a nutritional deterrent in their foods, the adverse effects of tannins could come out as by binding to digestive enzymes in the intestines of animals, creating lesions in the intestinal epithelium, causing oxidative stress and the formation of semiquinone radicals, destroying microbial symbiotic communities and exhibiting pharmacological toxic effects [29]. Therefore, the decreases in the food consumption by the larvae when tannin added to the artificial diets are the results of the conditions mentioned in the literature [30]. The results of this study demonstrated that the pupal dry weights and the lipid contents of the pupae fed on the artificial diets containing tannin, have decreased. Lower results of the pupal dry weight by the addition of tannin to the artificial diet support the study carried out with some species [13; 31; 32-33]. The emergence of semiquinone radicals when tannin ingested in artificial diets may have increased the metabolic cost and reduced the conversion efficiency of the consumed food to body mass [32]. Mrdakovic et al. [34] determined that high lipase activity was observed in the larvae of *Lymantria dispar* as a reaction to tannin. The reason for a decrease in the pupae lipid content of *U. gilvata* species by the addition of tannin to the artificial diet may cause higher lipase activities. According to our results, an increase in the protein content of pupa was detected by the addition of tannin to the artificial diet. This result obtained from our study supports the studies of Simpson and Raubenheimer [13]. During the plant-herbivore coevolution, encounters of herbivores with various adverse secondary compounds may have triggered the ability to stored proteins in herbivores' bodies [35]. The developmental lengths of the larvae were prolonged with the addition of tannin to the artificial diet according to our results. Tannin may have also prolonged the developmental period of the larvae as it causes the inhibition of digestive enzymes and affecting the usability and convertibility of nutrients, causing lesions in the digestive tract. This may explain why larvae feed on herbaceous forms, despite the presence of woody forms of tannin in the habitat. Larvae may be fed with *S. alopecuroides* to avoid adverse effects of tannin and to avoid competition.

In conclusion; arabinose exhibiting a toxic effect on many insects but no toxic effect for *U. gilvata* larvae. The amount of galactose consumed was quite higher that it may be a nutritional stimulant for *U. gilvata* larvae, but galactose may not be metabolized by *U. gilvata* larvae. It could be summarized that the food consumptions, dry weights and lipid contents of pupae were decreased, but the amount of the protein in pupa was increased when the larvae fed the artificial diets having tannin when compared with other sugar type. Therefore our results regarding with tannin can shed light on co-evolution.

Acknowledgements

This study was conducted as a master thesis at Ondokuz Mayıs University. Furthermore, it was presented as an poster presentation at the XII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, , 14-17 Eylül 2015, Muğla, TURKEY.

References

- [1] Stam, J. M., Kroes, A., Li, Y., Gols, R., van Loon, J. J. A., Poelman, E. H. & Dicke, M. (2014). Plant interactions with multiple insect herbivores: from the community to genes. *Annual Review of Plant Biology*, 65 (1), 689-713.
- [2] Coyle, D.R., Clark, K.E., Raffa, K.F. & Johnson, S.N. (2011). Prior host feeding experience influences ovipositional but not feeding preference in a polyphagous insect herbivore. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 138 (2), 137-145.
- [3] Rockstein, M. (1978). *Biochemistry of Insects*. 1-55. NewYork: Academic Press.
- [4] Gündüz, E. A., Gl, A., Varer Işıtan, Ö., Boz, A. & Cesur, Ö. (2010). Effects of sugar feeding on lipid, glycogen, and total sugar levels of a female parasitoid, *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae): *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 343-347.
- [5] Sarwar, M. (2009). Populations' synchronization of aphids (Homoptera: Aphididae) and ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae) and exploitation of food attractants for predator: *Biological Diversity and Conservation*, 2, 85-89.
- [6] Kaufmann, C., Mathis, A. & Vorburger, C. (2015). Sugar-feeding behaviour and longevity of European *Culicoides* biting midges: *Medical and Veterinary Entomology*, 29, 17-25. <https://doi.org/10.1111/mve.12086>.
- [7] Bernklau, E. J., Hibbard, B. E. & Bjostad, L. B. (2018). Sugar preferences of western corn rootworm larvae in a feeding stimulant blend: *Journal of Applied Entomology*, 142, 947-958.

- [8] Barbehenn, R.V. & Constabel, P.C. (2011). Tannins in plant-herbivore interactions: Phytochemistry, 72 (13), 1551-1564.
- [9] Monteys, V. S. (2002). Nueva planta alimenticia para *Uresiphita gilvata* (Lep. Crambidae) y nuevo parasitoide braconido (Hym.) de ésta : Phytoma, 138, 43-45.
- [10] Can, Ö. & Taş, B. (2012). Ecological and socio-economic importance of Cernek Lake and wetland area (Kızılırmak Delta, Samsun) located in Ramsar area: TÜBAV Bilim Dergisi 5 (2), 1-11.
- [11] Yamamoto, R. T. (1969). Mass rearing of tobacco hornworm. II. Larval rearing and pupation: *Journal of Economical Entomology*, 62, 1427-1431.
- [12] Lee, K. P., Behmer, S. T., Simpson, S. J. & Raubenheimer, D. (2002). A geometric analysis of nutrient regulation in the generalist caterpillar *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Journal of Insect Physiology*, 48 (6), 655-665.
- [13] Simpson, S. J. & Raubenheimer, D. (2001). The geometric analysis of nutrient–allelochemical interactions: a case study using locusts. *Ecology*, 82, 422–439.
- [14] Yi, L., Lakemonda, C. M. M., Sagisb, L. M. C., Eisner-Schadlerc, V., van Huisd, A. & van Boekela, M. A. J. S. (2013). Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, 141, 3341-3348.
- [15] Oonincx, D. A. G. B., Van Broekhoven, S., Van Huis, A. & Van Loon, J. J. A. (2015). Feed conversion, survival and development and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS One*, 10 (12), 1-20. [https:// doi:10.1371/ journal.pone.0144601](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601).
- [16] Cornelius, M.L., Grace, J.K. & Yates, J.R. (1996). Acceptability of different sugars and oils to three tropical ant species (Hymen.: Formicidae). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69, 41 – 43.
- [17] Blüthgen, N. & Fiedler, K. (2004). Preferences for sugars and amino acids and their conditionality in a diverse nectar-feeding ant community. *Journal of Animal Ecology*, 73 (1), 155-166.
- [18] Juma, G., Thiongo, M., Dutaur, L., Rharrabe, K., Marion-Poll, F., Le, Ru. B., Magoma, G., Silvain, J. F. & Calatayud, P. A. (2013). Two sugar isomers influence host plant acceptance by a cereal caterpillar pest. *Bulletin of Entomological Research*, 103, 20-28.
- [19] Bernays, E.A., Chapman, R.F. & Singer, M.S. (2004). Changes in taste receptor cell sensitivity in a polyphagous caterpillar reflect carbohydrate but not protein imbalance. *Journal of Comparative Physiology A*, 190 (1), 39-48.
- [20] Jiang, X.J., Ning, C., Guo, H., Jia, Y. Y., Huang, L.Q., Qu, M. J. & Wang, L. Q. (2015). A gustatory receptor tuned to D-Fructose in antennal sensilla chaetica of *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, (60), 39-46.
- [21] Thompson, S. N. (1981). Effects of Dietary Carbohydrate and Lipid on Nutrition and Metabolism of Metazoan Parasites with Special Reference to Parasitic Hymenoptera. In: Bashkaran, G., Friedman, S. & Rodriguez, J. G. (Eds), *Current Topics in Insect Endocrinology and Nutrition* (1 st ed., pp. 215-252). New York and London: Plenum Press
- [22] Hu, J. S., Gelman, D. B., Salvucci, M. E., Chen, Y. P. & Blackburn, M. B. (2010). Insecticidal activity of some reducing sugars against the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*, Biotype B. *Insect Science*, 10 (203), 1-22.
- [23] Puterka, G.J., Farone, W., Palmer, T. & Barrington, A. (2003). Structure-function relationships affecting the insecticidal and miticidal activity of sugar esters. *Journal of Economical Entomology*, 96, 636-644.
- [24] Hilder, V. A., Gatehouse, A. M. R., Sheerman, S. E., Barker, R. F. & Boulter, D. (1987). A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, 330, 160-163.
- [25] Price, D. R. G., Tibbles, K., Shigenobu, S., Smertenko, A., Russell, C. W., Douglas, A. E., Fitches, E., Gatehouse, A. M. R. & Gatehouse, J. A. (2010). Sugar transporters of the major facilitator superfamily in aphids; from gene prediction to functional characterization. *Insect Molecular Biology*, 19, 97-112.
- [26] Arrese, E. L. & Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: Energy, Metabolism and Regulation. *Annual Review of Entomology*, 55, 207-225.
- [27] Raubenheimer, D. (1992). Tannic acid, protein and digestible carbohydrate: dietary imbalance and nutritional compensation in the African migratory locust: *Ecology*, 73, 1012-1027.
- [28] Nash, W. J. & Chapman, T. (2014). Effect of dietary components on larval life history characteristics in the Medfly (*Ceratitis capitata*: Diptera, Tephritidae): *PLoS One*, 9(1), e86029.
- [29] Mole, S. & Waterman, P. G. (1987). Tannins as antifeedants to mammalian herbivores—still an open question, In Waller, G. R. (Eds), *Allelochemicals: role in agriculture and forestry* (72–587). Washington, D.C., USA: ACS Symposium Series, American Chemical Society.

- [30] Kubo, I., Hori, I., Nihei, K-I., Satooka, H., Céspedes, C. L. & Calderon, J. (2008). Insect growth inhibitory activity and cytotoxicity of tannic acid from *Gallae rhois*. *Biopesticides International*, 4 (1), 6-14.
- [31] Liu, W., Xue, C. B., Zhang, J. J., Yu, J. F. & Luo, W. C. (2010). Inhibitory effect of tannic acid on growth, development and phenoloxidase activity of *Spodoptera exigua* larva. *Journal of Plant Resources and Environment*, 19 (1), 32–37.
- [32] Barbehenn, R. V., Jaros, A., Lee, G., Mozola, C., Weir, Q. & Salminen, J. P. (2009). Hydrolyzable tannins as “quantitative defenses”: limited impact against *Lymantria dispar* caterpillars on hybrid poplar. *Journal of Insect Physiology*, 55, 297–304. <https://doi: 10.1016/j.jinsphys.2008.12.001>.
- [33] Hemming, J. D.C. & Lindroth, R. L. (1995). Intraspecific variation in aspen phytochemistry: effects on performance of gypsy moths and forest tent caterpillars. *Oecologia*, 103, 79–88.
- [34] Mrkadovic, M., Peric Mataruga, V., Ilijin, L., Vlahovic, M., Jankovic Tomanic, M., Mircic, D. & Lazarevic, J. (2013). Response of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae from differently adapted populations to allelochemical stress: Effects of tannic acid. *European Journal of Entomology*, 110 (1), 55-63.
- [35] Bernays, E.A. (1998). Evolution of feeding behaviour in insect herbivores. *Bioscience*, 48 (1), 35-44.

Biological Diversity and Conservation

Cilt / Volume 13, Sayı / Issue 2, Ağustos / August 2020

Contents / İçindekiler

Yayın/Page No.-Sıra/Order No.

01. 102 Determination of herbicide degradation potentials of bacteria isolated from glyphosate applied soil
02. 109 Seed morphological properties of the genus *Lavatera* L. (Malvaceae) in Turkey
03. 115 Invasive fish threat in Manyas Lake (Turkey)
04. 121 The flora of Kızıldağ Highlands (Adana) and environments (Adana/Turkey)
05. 136 A new variety of the *Tripleurospermum* (Asteraceae) from Turkey
06. 144 Investigation of salep and salep containing products in view of food and pharmacy
07. 153 The effect of DNase I on free DNAs and its relationship with metastasis: A preliminary results
08. 160 The antiproliferative potential of isolated emodin and aloe-emodin from *Rheum ribes* on different cancer cell lines
09. 169 Plants of the Anatolian Arboretum
10. 178 The effects of various carbohydrates and tannic acid on the food consumption and growth performance of *Uresiphita gilvata* (Lepidoptera: Crambidae)

Dergiyi tarayan veri tabanları / *Abstracted-Indexed in:* Turkey Citation Index, Clarivate Analytics Zoological Record, CiteFactor, Index Copernicus, JournalSeek Database, arastirmax.

Kütüphaneler / Libraries: Aberystwyth University; All libraries; Bath University; Birmingham University; Cardiff University ;City University London; CONSER (Not UK Holdings); Edinburgh University; Essex University; Exeter University; EZB Electronic Journals Library; Feng Chia University Library; GAZI Gazi University Library; Glasgow University; HEC-National Digital Library; Hull University; Imperial College London; Kaohsiung Medical University Library; KYBELE Anadolu University Library; Lancaster University; Libros PDF; Liverpool University; London Metropolitan University; London School of Economics and Political Science; Manchester University; National Cheng Kung University Library; National ILAN University Library; Nottingham University; Open University; Oxford University; Queen Mary,University of London;Robert Gordon University; Royal Botanic Gardens, Kew; Sheffield Hallam University; Sheffield University; Shih Hsin University Library; Smithsonian Institution Libraries; Southampton University; Stirling University; Strathclyde University; Sussex University; The National Agricultural Library (NAL); The Ohio Library and Information NetWork; Trinity College Dublin; University of Washington Libraries; Vaughan Memorial Library; York University.

“Türkiye Atıf Dizini”ne kayıtlıdır. (This journal is registered to “Turkey Citation Index”)
Bu dergi Crossref üyesidir. (This journal is a CrossRef member)

Dergide yayınlanan makalelere” [http:// www.biodicon.com](http://www.biodicon.com)” adresinden ulaşabilir.

This journal is available online at [http:// www.biodicon.com](http://www.biodicon.com)
© 2020 Tüm hakları saklıdır/All rights reserved

ISSN 1308-5301



9 771308 530001

ISSN 1308-5301 Print / ISSN 1308-8084 Online

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

“Biodiversity and Conservation (BioDiCon)” is an international, peer-reviewed scientific journal published in online and printed form, in accordance with the principles of independency and impartiality. This journal is a peer reviewed journal on the topics of biological diversity and conservation that uses independent, unbiased double-blinded peer review principles.

“Biological Diversity and Conservation” publishes experimental studies, compilations on current issues, case reports, editorial comments and editorial letters prepared in accordance with the ethical guidelines, about on all areas of biological diversities. Descriptive or experimental studies presenting clear research questions are accepted. The journal’s publication language are English and Turkish.

The manuscripts submitted to Biological Diversity and Conservation will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal.

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements is required for experimental, clinical, and drug studies and for some case reports. If required, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors.

A declaration text including the written consent should be added in the manuscripts concerning experimental research on humans related to that the patients and the volunteers were informed about the procedures of the performed and to be performed studies on them. In addition, information about patients’ approval, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should be addressed in the Materials and Methods section of the manuscript. In the studies carried out on animals, the precautions taken to prevent pain and suffering of the animals should be clearly indicated.

Authorship Contribution Form

The journal of Biological Diversity and Conservation, in order to protect the rights of the authors and to prevent such situations as ghost / honorary authorship, requires the author to submit a signed and a scanned copy of the **Authorship Contribution Form** (which can be downloaded from <http://www.biodicon.com>).

Policy of Screening for Plagiarism

All submissions are checked by a similarity detection software iThenticate program for determination of plagiarism and non-ethical situations. In cases where the application is alleged or suspected as plagiarism, citation manipulation and data forgery/production, the Editorial Board will follow and act in accordance with the COPE rules.

If the editorial board gets suspicious about a case of ‘gift authorship’, the application will be rejected without being reviewed. As a part of article submission the responsible author should send a short statement text affirming that s/he takes all the responsibility of the article during the submission and review stages of the manuscript.

ICMJE Conflict of Interest form

Biological Diversity and Conservation journal asks and encourages its authors and submitted articles to disclose any existing or potential conflicts of interests, including financial, consultant and institutional ones, that may lead to potential bias or conflicts among individuals involved in the evaluation process. Any material grants or other support received for a study sent from individuals or institutions should be reported to the Editorial Board. In order to disclose a potential conflict of interest, **The Potential Conflict of Interest Disclosure Form (ICMJE)** must be signed by all contributing authors and forwarded to the journal editorial board.

Appeals and Complaint

All appeals and complaint cases are dealt with in the framework of the COPE trial rules by The Editorial Board of the journal. In such cases, the authors should directly make a contact with the editorial office in relation to their appeal and complaints.

Copyright

When submitting an article to the journal of Biological Diversity and Conservation, the authors agree to give the copyright of their articles to the journal. If the publication is rejected, the copyright of the article will be assigned back to the authors. Biological Diversity and Conservation requires each article application to be carried out together with the **Copyright Transfer Form** (which can be downloaded from

When using previously published content, permission from the copyright owner must be obtained by the authors.

The statements or opinions contained in the articles published in the Journal of Biological Diversity and Conservation reflect the views of the author(s); the editors, the editorial board, and the publisher don’t accept any responsibility or liability for such materials. All the responsibility belongs to the authors about the published content.

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Authors are required to prepare manuscripts in accordance with the STROBE guidelines for observational original research studies, STARD guidelines for studies on diagnostic accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, TREND guidelines and CONSORT guidelines for randomized research studies for non-randomized public behaviour. The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conducting (<http://www.icmje.org/icmje-recommendations>).

Manuscripts can only be submitted through the journal’s online manuscript submission and evaluation system, available at Submissions that do not comply with the rules of the journal will be returned to the submitting author with the requests of correction requets.

Authors are required to submit the following

- a) Copyright Transfer Form,
- b) Author Contributions Form,
- c) ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors) during the initial submission. These forms are available for download at
- d) Similarity Form (iThenticate: According to the Plagiarism Detection Software programme the similarity index of the article should not exceed 20% after all references and less than 1% matches have been removed.)

Preparation of the Manuscript (General rules for all manuscript types)

Title page: The first page of the article should include the title of manuscript, authors' names and institutions, an abstract, and keywords. Title, abstract, and keywords must be provided both in English and Turkish. The corresponding author should be indicated by a footnote and besides his/her full open mail address, and an e-mail address should also be provided.

A separate title page should be submitted for all submissions and this page should include:

- ❖ Full title of manuscript as well as a short title of up to 50 characters (title)
- ❖ Name(s) , address and highest academic degree of the author (s),
- ❖ Providing information about supporting institutions (if any),
- ❖ Name, address, telephone, fax numbers and e-mail address of the corresponding author,
- ❖ Acknowledgment of the individuals who contributed to the preparation of the manuscript.

Abstract: The abstract of Original Articles should be structured with subheadings (Objective, Methods, Results, and Conclusion). Abstract should be written both in English and in Turkish up to 300 words. First the English name of the article, then the English abstract should be written. After that the Turkish name of the article and a summary in Turkish should be written. If the article is written in English and sent from outside Turkey, Turkish abstract it is not necessary. Please check Table 1 below for word count specifications.

Keywords: Key words should not exceed 3-5 words. Keywords should start with lowercase letters except for italic words and special names.

MANUSCRIPT TYPES

Original Research

The first page of the article should include the title of manuscript, authors' names and institutions, an abstract, and keywords. Title, abstract, and keywords must be provided both in English and Turkish. . If the article is written in English and sent from outside Turkey, Turkish Title, abstract and Keywords it is not necessary. The corresponding author should be indicated by a footnote and besides his/her full open mail address, and an e-mail address should also be provided.

Title: Must be provided both in English and Turkish.

Abstract: It should not include subheadings and should be limited to 350 words

Keywords: This section should contain at least three and at most six items and should be provided just below the abstract.

Main Text: The text should start with the Introduction, and be divided into appropriate sections. Sections must be numbered consecutively. Section headings must be written minisculely flush left and bold with their numbers (as, 1. Introduction, 2. Material and method, 3. Results, 4. Conclusions and discussion). Subsections must be numbered as "1.1", "1.2", etc., using the section number and must be written minisculely flush left. All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. In the final section there must be Acknowledgements (if any) , References and Appendices (if any). Please check Table 1 for the limitations. It should include Introduction, other subheadings and Conclusion sections and should be limited to 5000 words except for the references.

References: The reference list should be placed just below the main text and the number of references should not exceed 50.

Tables, Figures and Images: The appearance of Tables, Figures and Images should be provided in the text. The visuals should be original or the written permission obtained from the copyright holder should be sent to the Editor-in-Chief's Office.

Review

Reviews prepared by the authors who have a broad knowledge in a specific area and represented in the international literature by a high number of publications and citations, are evaluated.

Title: Must be provided both in English and Turkish.

Abstract: Abstract shouldn't include subheadings and should be limited to 350 words.

Key words: This section should include at least three and at most six items and should be provided just below the abstract.

Main Text: It should include Introduction, other subheadings and Conclusion sections and should be limited to 5000 words excluding the references.

References: The reference list should be placed below the main text and the number of references should not exceed 55.

Tables, Figures and Images: Tables, Figures and Images: The appearance of Tables, Figures and Images should be provided in the text. The visuals should be original or the written permission obtained from the copyright holder should be sent to the Editor-in-Chief's Office. Please check Table 1 for the limitations.

Research note, Case Reports, Case Series and Literature Review

The text should include Introduction, Case reports, Discussion and Conclusion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Research Note.

Letters to the Editor

Discusses important parts, unobserved aspects or missing parts of a previously published article. Letters to the Editor should not include Abstract, Keywords and Tables, Figures, Images, and other media. The text should be unstructured. The commented article must be properly identified in the letter to the editor (Table 1).

Table 1. Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Word limit	Abstract word limit	Reference limit	Table limit	Figure limit
Original Research	5000	350	35	7	maximum 20 images
Review Article	5000	350	55	7	maximum 20 images
Research note, Case Report	1000	250	15	No tables	maximum 15 images
Case Series	1500	250	20	maximum 15 images	maximum 15 images
Literature of Review	3500	250	35	maximum 15 images	maximum 15 images
Letter to the Editor	500	No abstract	7	No tables	No figure

Tables

Tables should be included in the main document, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. Their appearance in the text should be provided. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes. Tables should be created using the “insert table” command of the word processing software.

Figures, Graphics and Photographs

Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (JPEG format) through the submission system. The files should not be embedded in a Word document or in the main document. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blacked out. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. All submitted figures should be clear in resolution and large in size. Figures, tables and illustrations should be inserted to the appropriate positions where they are mentioned in the text. All drawings, graphics, photographs, etc. should be regarded as figures. Figures should be numbered consecutively (as Figure 1.).

References

While citing publications, the latest and the most current publications should be preferred. At least half (50%) of the references should be published within the last 10 years. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. Journal titles should be abbreviated in accordance with the journal abbreviations in Index Medicus/MEDLINE/PubMed. When there are 6 or fewer authors, all authors should be listed. If there are 7 or more authors, the first 6 authors should be written, the space should be “...” left behind and the last author should be written. In the main text of the manuscript, references should be cited by using numbers in parentheses [as 3]. Authors are responsible for the accuracy of references. The reference styles for different types of publications are presented in the following examples. Reference must be made according to APA 6th. Please refer to the details;

Reference form

Reference form

No author

[1] *Regional perspectives on aid for trade*. (2014). Paris, FR: Organisation for Economic Cooperation and Development.

Journal article with DOI

- [1] Sengün, Y. (2012). The wild plants consumed as a food in Afyonkarahisar. *Biological Diversity and Conservation*, 5(2), 95-105. <https://doi:10.1242/jeb.103937>
- [2] Yücel, E., & Ezer, T. (2018). The bryophyte flora of Eskisehir Province (Turkey). *Arctoa* 27, 164–171. <https://doi:10.15298/arctoa.27.16>
- [3] Author, A. (year). Title of article: *Title of Journal*, volume(issue), page range. Doi:xx xxxxxxxxxx.

Journal article with DOI

- [1] Eroğlu, G., Kaşık, G., & Öztürk, C. (2015). Three new myxomycete records from Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 8(1), 16-18.
- [2] Brown, L. F., Yeo, K., Berse, B., Yeo, T. K., Senger, D. R., Dvorak, H. F., & Van De Water, L. (1992). Expression of vascular permeability factor. *The Journal of Experimental Medicine*, 176(5), 1375-1379.

Journal article published in a supplement

- [1] Lock, M. (2015). Eclipse of the gene and the return of divination. *Current Anthropology*, 46(Suppl. 5), S47-S70. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/10.1086/432452>

Books

- [1] Fleer, M. (2015). *Science for children*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
 [2] Berkes, F. & Kışlalıoğlu, M. (1990). *Ekoloji ve çevre bilimleri*. İstanbul: Remzi Kitabevi.
 [3] Langlais, B., Reckhow, D. A., & Brink, D. R. (1991). *Ozone in water treatment*. London: UK: CRC Press.
 [4] Brown, M., Shields, J., Kaine, S., Dolle-Samuel, C., North-Samardzic, A., McLean, P., ... O'Leary, P. (2016). *Managing employee performance and reward: Concepts, practices, strategies (2nd ed.)*. Port Melbourne, VIC: Cambridge University Press.

eBook

- [1] Bull, M. (2015). *Punishment and sentencing: Risk, rehabilitation and restitution*. Retrieved from <http://CURTIN.ebib.com.au/patron/FullRecord.aspx?p=1985996>

Chapter in an edited print book

- [1] Petermann, E. (2015). Monster mash-ups: Features of the horror musical. In L. Piatti-Farnell & D. L. Brien (Eds.), *New directions in 21st century gothic: The gothic compass* (4th ed., pp. 71-83). New York, NY: Taylor and Francis.

Conference paper

- [1] Novak, D., & Verber, D. (2015, July 21). *Assessment of the influence caused by random events within real-time strategy game engine on a game bot gameplay*. Paper presented at the 8th Annual International Conference on Computer Games, Multimedia and Allied Technology, Singapore. https://doi.org/10.5176/2251-1679_CGAT15.27



Hakem Değerlendirme Formu / Reviewer Evaluation Form

Makale adı / Article Title:

Makale No / Article No:

Lütfen sizin için uygun olan seçeneği “X” koyarak işaretleyiniz / Please indicate your answer with an “X”.

1. Makale orijinal mi? / Is the article original?
 - Evet / Yes
 - Hayır / No
2. Problem uygun şekilde belirlenmiş mi? / Is the problem properly stated?
 - Evet / Yes
 - Hayır / No
3. Problem uygun şekilde ele alınmış mı veya çözülmüş mü? / Is the problem adequately treated or solved?
 - Evet / Yes
 - Değişiklikler veya ekler gerekli / Changes or elaborations required
 - Hayır / No
4. Belgeleme / Documentation:
 - Tablolar / Tables:
 - İyi / Good
 - Zor anlaşılır (Tablo no:) / Unclear (Table no:)
 - Gereksiz (Tablo no:) / Unnecessary (Table no:)
 - Doğru değil (Tablo no:) / Incorrect (Table no:)
 - Grafikler / Graphs:
 - İyi / Good
 - Zor anlaşılır (Şekil no:) / Unclear (Figure no:)
 - Gereksiz (Şekil no:) / Unnecessary (Figure no:)
 - Doğru değil (Şekil no:) / Incorrect (Figure no:)
 - Diğer çizimler / Other illustrations:
 - İyi / Good
 - Değişiklik gerekli (Şekil no:) / Change needed (Figure no:)
 - Gereksiz (Şekil no:) / Unnecessary (Figure no:)
 - Düşük kalitede (Şekil no:) / Poor quality (Figure no:)
 - İstatistikler / Statistics:
 - Uygun / Suitable
 - Uygun değil / Unsuitable
5. Sonuçların yorumu / Interpretation of results:
 - Doğru veya uygun / Correct or appropriate
 - Düzeltilmeli / Should be amended
 - Bulunamadı / Not found
6. Literatür alıntısı / Literature cited:
 - Uygun / Appropriate
 - Çok geniş / Too broad
 - Tam değil / Incomplete
7. Dil ve üslup / Language and style:
 - İyi yazılmış / Well written
 - Daha kısa ve öz olmalı / Should be made more concise
 - Tekrar yazılmalı veya düzenlenmeli / Should be rewritten or edited
8. Makale başlığı / Article title:
 - Uygun / Appropriate
 - Çok uzun / Too long
 - Çok genel / Too general

9. Özet / **Abstract**:
- Uygun / **Appropriate**
 - Çok uzun / **Too long**
 - Çok genel / **Too general**
 - Makalenin içeriğini yansıtmıyor / **Does not reflect the paper's content**
10. Anahtar kelimeler / **Key words**:
- Uygun / **Appropriate**
 - Uygun değil / **Inappropriate**
11. Makale hakkında genel fikir / **General opinion about the paper**:
- Yeni bulgular sağlıyor / **Provides new findings**
 - Yeni bulgular sağlıyor ama az etkili / **Provides new findings but is of marginal interest**
 - Önceki bulguların gerekli bilgisini sağlıyor / **Provides needed confirmation of previous findings**
 - Önceden bilinen çalışmaların tekrarı / **Repeats already known work**
12. Öneriler / **Recommendations**:
- Değiştirilmeden basılmalı / **Should be published without changes**
 - Değişikliklerden sonra basılmalı / **Should be published after changes**
 - Yeniden yazım veya düzeltme sonrasında bir karar için yeniden sunulmalı / **Should be resubmitted for a decision after rewriting or editing**
 - Basılmamalı / **Should not be published**
13. Detaylı işaretlemeler (Lütfen eğer gerekliyse sayfaları ekleyin) / **Detailed remarks (Please attach pages if necessary)**:

Belirtmek istediğiniz diğer ayrıntılar (varsa) / **Other details wanted to be indicated (if exist)**

Hakemin adı / **Name of reviewer**:

Adres / **Address**:

Tel / Fax no:

e-mail:

(Hakem adı gizli tutulur / Reviewer name is kept secret)

Telif Hakkı Devir Formu/ The Copyright Agreement FormBiyolojik Çeşitlilik ve Koruma/*Biological Diversity and Conservation*

ISSN 1308-5301 Print; ISSN 1308-8084 Online

Prof. Dr. Ersin YÜCEL, P.K. 86, İki Eylül PTT Merkez, 26000 Eskişehir / Türkiye

Derginin Adı / *Journal Title*: Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma/*Biological Diversity and Conservation*Makalenin Adı / *Manuscript title*:

.....

.....

Yazarların Adı / *Full Names of All Authers*:

.....

Yazışmaların Yapılacağı Yazarın Adı ve Adresi / *Name, Adres Of Corresponding Author*:

.....

TC Kimlik No. / *ID Number*: e-posta:**Yazar(lar) / The Author(s) warrant(s) that:**

Sunulan makalenin orijinal olduğunu; makalenin başka bir yerde basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını; diğer şahıslara ait telif haklarını ihlal etmediğini taahüt eder. /

The manuscript submitted is his own orijinale work; the manuscript has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere; the manuscript do not infringere upon any existing copyright.“Telif Hakkı Devir Formu” tüm yazarlarca imzalanmalıdır. / *This copyright form must be signed by all authors.*TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....TC Kimlik No. / *ID Number*:.....Adı Soyadı / *Full name*:.....Tarih / *Date*: İmza / *Signature*.....**Address:**

Prof. Dr. Ersin YÜCEL

İki Eylül PTT Merkez, P.K. 86; 26000 Eskişehir / Turkey

Phone: +90364189988; E-mail: biodicon@gmail.com



www.biodicon.com

ISSN: 1308-8084 Online

Biological Diversity and Conservation

Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma

ISSN: 1308-5301 Print

ABONE FORMU / SUBSCRIPTION FORM

Adı / Name :
 Soyadı / Surname :
 Adres / Address :
 Semt – İlçe / City- State :
 Posta kodu / Postal Code :
 İl / Country :
 Telefon / Telephone :
 Faks / Fax :
 e-posta / e-mail :

* Yurtiçi Abone Ücreti, **Yıllık 3 Sayı 150TL / Annual Subscription Rate for Outside Turkey is 70 USD or 60 EUR for 3 issues.**

*Abone olmayanlar için her bir sayı 100 TL 'dir (Türkiye içi) / **Each volume is 50 USD or 40 EUR for non-subscribers (Outside of Turkey).**

Sadece belirttiğim sayıyı olmak istiyorum / **I would like to have an issue;**

Vol. 1/1.....(), Vol. 1/2 ()
 Vol. 2/1(), Vol. 2/2 (), Vol. 2/3..... ()
 Vol 3/1.(), Vol. 3/2..... (), Vol .3/3.....()
 Vol 4/1.(), Vol. 4/2..... (), Vol .4/3.....()
 Vol 5/1.(), Vol. 5/2..... (), Vol .5/3..... ()
 Vol 6/1.(), Vol. 6/2..... (), Vol .6/3..... ()
 Vol 8/1.(), Vol. 8/2..... (), Vol .8/3..... ()
 Vol 9/1.(), Vol. 9/2..... (), Vol .9/3..... ()
 Vol 10/1.(), Vol. 10/2..... (), Vol .10/3..... ()
 Vol 11/1.(), Vol. 11/2..... (), Vol .11/3.....()
 Vol 12/1.(), Vol. 12/2..... (), Vol .12/3.....()
 Vol 13/1.(), Vol. 13/2..... (), Vol .13/3.....()

Abone olmak istiyorum / **I would like to have an annual subscription;**

..... () 2020.....() 2021

Dergi aboneliğiniz ile ilgili ücreti

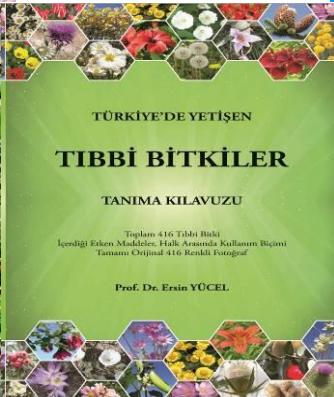
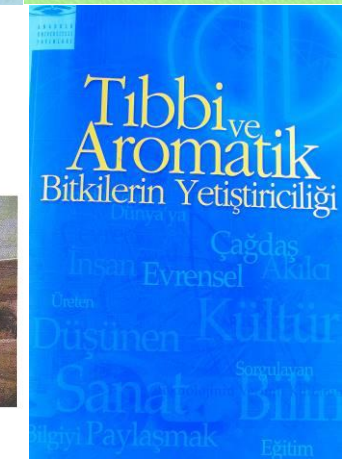
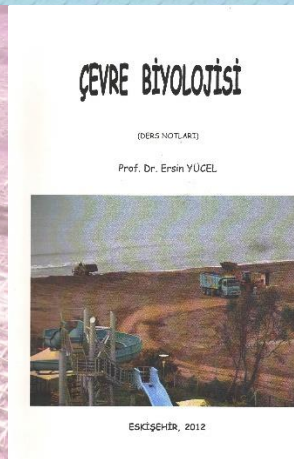
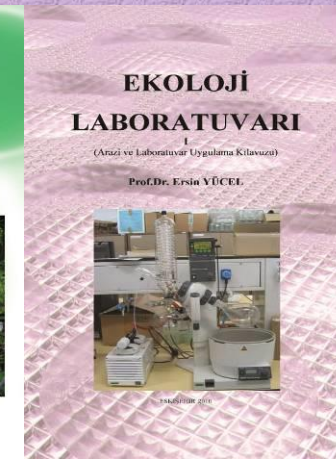
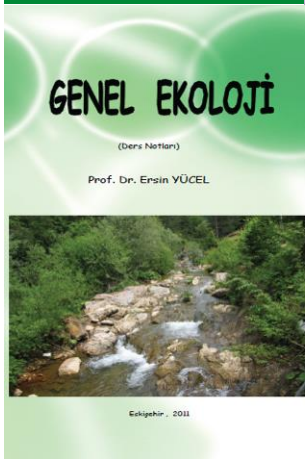
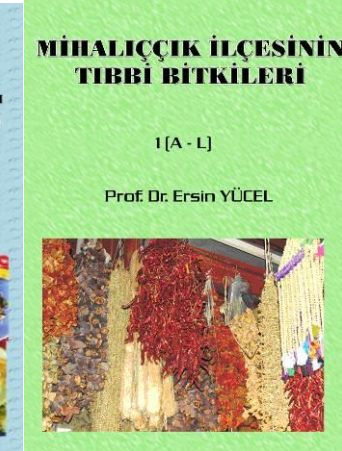
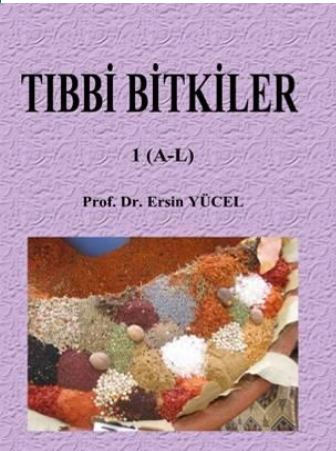
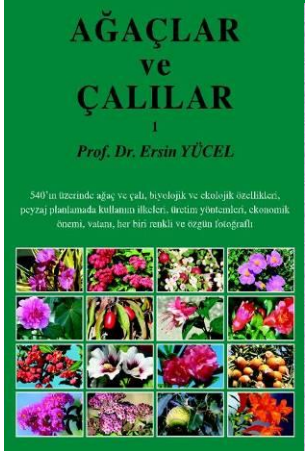
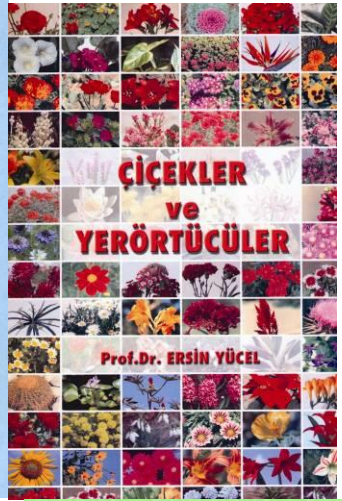
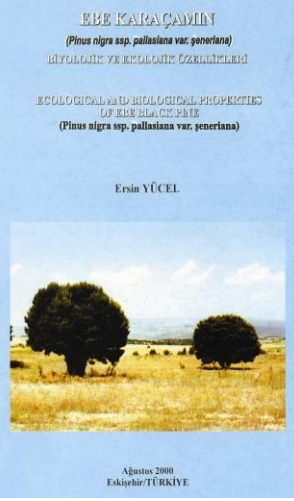
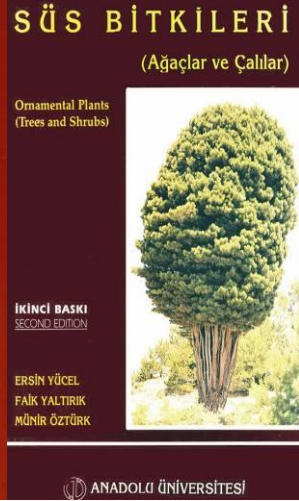
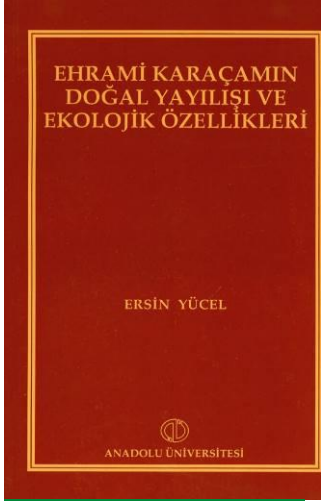
“**AKBANK, Ersin Yücel, IBAN: TR24 0004 6011 0088 8000 0256 06**” numaralı hesaba yatırdıktan sonra bu formu “**biodicon@gmail.com**” adresine ulaştırınız. Dergi adresinize posta ile adresinize gönderilecektir.

The payment of the article offering, please transfer total amount to the following bank account: “**AKBANK, Ersin Yücel, IBAN: TR24 0004 6011 0088 8000 0256 06**”. After that, this form is going to be sent the following address “**biodicon@gmail.com**”. The journal with cash on delivery will be sent your address.

Tarih / **Date:**/...../2020

İmza / **Signature:**

(Abone formunu Word belgesi olarak gönderiniz/Please send subscription form as a Word document)



İletişim Adresi: ebitki@gmail.com
<http://www.bitkilerim.com>