

Volume / Cilt / 14

Issue / Sayı / 1

April /Nisan / 2021

# BIOLOGICAL DIVERSITY AND CONSERVATION

It is a peer-reviewed international journal that publishes on biological diversity and conservation  
*Biyolojik çeşitlilik ve koruma üzerine yayın yapan hakemli uluslararası bir dergidir*



Print: ISSN 1308-5301  
Online: ISSN 1308-8084

<http://www.biodicon.com>

Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma  
*Biological Diversity and Conservation*

Biyolojik çeşitlilik ve koruma üzerine yayın yapan hakemli uluslararası bir dergidir  
*It is a peer-reviewed international journal that publishes on biological diversity and conservation*  
Cilt / Volume **14**, Sayı / Issue **1**, Nisan / April **2021**

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

ISSN 1308-5301 Print; ISSN 1308-8084 Online

**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 a peer-reviewed international journal that publishes on biodiversity and conservation. "Biological Diversity and Conservation" publishes experimental studies on all aspects of biological diversity, original manuscript, 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, ethnobotanical, 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 three times a year.

**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 yayımlanmaktadır. 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. Yayımlanma yeri Türkiye'dir. Bu dergi yılda üç sayı yayınlanır.

**Dergiyi tarayan veri tabanları / Abstracted-Indexed in**

Web of Science {Zoological Records Indexed} Clavariate Analytic, CiteFactor, Turkey Citation Index, JournalSeek Database, arastirmax, CrossRef;10.46309/biodicon.

**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; ANKOS; 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..

*Web of Science-Clarivate Analytics, Zoological Record*

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

Bu dergi CrossRef;10.46309/biodicon. üyesidir. (This journal is a CrossRef;10.46309/biodicon. 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](mailto:biodicon@gmail.com) ; **Web Address:** <http://www.biodicon.com>

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

**Baş editör yardımcısı/ Deputy Editor in Chief****İlkin YÜCEL ŞENGÜN**

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

**Associate Editors**

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

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

**Hatice Mehtap KUTLU**; Eskişehir Technical  
University, Faculty of Sciences, Department of  
Biology, Tepebaşı / Eskişehir-Turkey  
E-mail: hmkutlu@eskisehir.edu.tr

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Statistical Editor**

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

**Alan editörleri/ Field Editors**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Murat KÜRŞAT**; Bitlis Eren University,  
Faculty of Arts and Sciences Biology, Bitlis,  
Turkey  
E-mail: mkursat@beu.edu.tr

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

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

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

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

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

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

**Sezgin ÇELİK**; Yıldız Technical University,  
Science Faculty, Department of Biology,  
İstanbul, Turkey  
E-mail: celik.sezgin@gmail.com

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

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

**Recep Sulhi ÖZKÜTÜK**; Eskişehir Technical  
University, Science Faculty, Department of  
Biology, Eskişehir, Turkey  
E-mail: ozkotuk@eskisehir.edu.tr

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

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

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

**Yavuz Bülent KÖSE**; Anadolu University,  
Faculty of Pharmacy, Eskişehir, Turkey  
E-mail: ybkose@anadolu.edu.tr

**Language Editors**

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

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

**Hakemler/ Reviewer**

Abdullah Altunışık, Rize (Turkey)  
 Abdullah Kaya, Ankara (Turkey)  
 Ahmed Bakrim, Kbouribga (Morocco)  
 Ahmet Aksoy, Antalya (Turkey)  
 Ahmet Mert, Isparta (Turkey)  
 Akın Kırış, Çanakkale (Turkey)  
 Alaaddin Yuksel, Bingöl (Turkey)  
 Ali Dönmez, Ankara (Turkey)  
 Ali Kandemir, Erzincan (Turkey)  
 Ali Savaş Bülbül, Kahramanmaraş (Turkey)  
 Ali Tarhan, Muğla (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 Akınal, Konya (Turkey)  
 Ayçin Yılmaz, Konya (Turkey)  
 Ayhan Şenkardeşler, İzmir (Turkey)  
 Ayla Kaya, Eskişehir (Turkey)  
 Aysel Bekleyen, Diyarbakır (Turkey)  
 Ayşe Kaplan, Sivas (Turkey)  
 Ayşen Türk, Eskişehir (Turkey)  
 Aziz Gül Hatay, (Turkey)  
 Aziz Türkoğlu, Muğla (Turkey)  
 Bahar Gurdal, İstanbul (Turkey)  
 Baran Yoğurtcuoğlu, Ankara (Turkey)  
 Barış Bani Kastamonu, (Turkey)  
 Barış Özüdoğru, Ankara (Turkey)  
 Betül Gıdık, Bayburt (Turkey)  
 Betül Y. Öztürk, Eskişehir (Turkey)  
 Bilal Şahin Çankırı, (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)  
 Cenk Burak Şahin, Hatay (Turkey)  
 Cenk Paşa Balıkesir, (Turkey)  
 Cihangir Kirazlı, Bolu (Turkey)  
 Cüneyt Kaya Rize, (Turkey)  
 Çiler Meriç, Trakya (Turkey)  
 Dalila Bousta, Taounate (Morocco)  
 Dani Sarsekova, S. Seifullin (Kazakistan)  
 Deniz Ergüden, Iskenderun (Turkey)  
 Derviş Öztürk Eskişehir (Turkey)  
 Derya Yıldırım, Isparta (Turkey)  
 Didem Turgut Coşan, Eskişehir (Turkey)  
 Dilek Düzgün Ergün, İstanbul (Turkey)  
 Duran Katar, Eskişehir (Turkey)  
 Duygu Nur Çobanoğlu, Bingöl (Turkey)  
 Ebru Ataşlar, Eskişehir (Turkey)  
 Elif Soylu, Rize (Turkey)  
 Emel Ulupınar, Eskişehir (Turkey)  
 Emel Uslu, Bolu (Turkey)  
 Emre Aydemir, Antalya (Turkey)  
 Emre Sevindik, Aydın (Turkey)  
 Erdi Can Aytar, Samsun (Turkey)  
 Erdoğan Atmış, Bartın (Turkey)  
 Ergin Hamzaoğlu, Ankara (Turkey)  
 Erhan Çalışkan, Trabzon (Turkey)  
 Ernaz Altundağ, Düzcce (Turkey)  
 Ersan Bektaş, Giresun (Turkey)  
 Ersin Demirel, Antakya (Turkey)  
 Ersin Karabacak, Çanakkale (Turkey)  
 Ersin Yücel, Eskişehir (Turkey)  
 Esat Çetin, Sakarya (Turkey)  
 Esra Martin, Konya (Turkey)

Fahrettin Tilki, Artvin (Turkey)  
 Faik Ceylan, Düzcce (Turkey)  
 Faruk Maraşlıoğlu, Çorum (Turkey)  
 Faruk Selçuk, Kırşehir (Turkey)  
 Fatih Kar, Kırşehir (Turkey)  
 Fatih Satıl, Balıkesir (Turkey)  
 Fatih Temel, Artvin (Turkey)  
 Fatma Güneş, Edirne (Turkey)  
 Fatma Kandemir Çevik, Adana (Turkey)  
 Fatma Koyuncu, Eskişehir (Turkey)  
 Fatma Yıldız, Antalya (Turkey)  
 Fatmagül Geven, Rize (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, Rize (Turkey)  
 Gözde-Elgin Cebe, İzmir (Turkey)  
 Gül Nilhan Tuğ, Ankara (Turkey)  
 Gülçin Işık, Eskişehir (Turkey)  
 Gülgün F. Ünal Şengör, İstanbul (Turkey)  
 Güllü Baycu, İstanbul (Turkey)  
 Gülsen Kendir, İstanbul (Turkey)  
 Gülşah Çobanoğlu, İstanbul (Turkey)  
 Gülşah Özyiğitoğlu, İstanbul (Turkey)  
 Güngör Yılmaz, Tokat (Turkey)  
 Gürkan Semiz, Denizli (Turkey)  
 H. Barış Özel, Bartın (Turkey)  
 H.Askin Akpulat, Erzurum (Turkey)  
 Hacı Halil Bıyık., Aydın (Turkey)  
 Haider Abbas, Karachi (Pakistan)  
 Hakan Çalışkan Eskişehir (Turkey)  
 Halil İbrahim Güler, Trabzon (Turkey)  
 Halil Koç, Sinop (Turkey)  
 Hamdi Aydın, Kocaeli (Turkey)  
 Handan Ücun Özel, Bartın (Turkey)  
 Hasan Akan, Şanlıurfa (Turkey)  
 Hasan Akgül, Gaziantep (Turkey)  
 Hasan Korkmaz, Elazığ (Turkey)  
 Hasan Özçelik, Isparta (Turkey)  
 Hatice Güneş Muğla, (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-Shebbaz, Missouri (USA)  
 İlgez Akata, Ankara (Turkey)  
 İltaf Ullah, Nowshera (Pakistan)  
 İbrahim İlker Özyiğit, İstanbul (Turkey)  
 İbrahim Turna, Trabzon (Turkey)  
 İbrahim Türkekül, Tokat (Turkey)  
 İlker Avan, Eskişehir (Turkey)  
 İlknur Bağdatlı Niğde (Turkey)  
 İlknur Dağ, Eskişehir (Turkey)  
 İnci Kravkaz, Kastamonu (Turkey)  
 İrfan Albayrak, Kırıkkale (Turkey)  
 İsa Başköse Ankara (Turkey)  
 İsa Telci, Isparta (Turkey)  
 İsmühan Potoğlu Erkara, Eskişehir (Turkey)  
 Kadriye Uruç Parlak, Ağrı (Turkey)  
 Kamil Koç, Manisa (Turkey)  
 Kâmuran Aktas, Manisa (Turkey)  
 Kerim Çiçek, İzmir (Turkey)  
 Khalid M. Khawar, Ankara (Turkey)  
 Kübra Sağlam, İstanbul (Turkey)  
 Levent İzci, Isparta (Turkey)  
 M. Ufuk Özbek, Ankara (Turkey)  
 Malik Faisal, İslamabad (Pakistan)  
 Manzoor Ahmad, İslamabad (Pakistan)  
 Marjan Komnenov, Skopje (Macedonia)

Maryam Keshavarzi, Tehran (Iran)  
 Mehmet Arslan, Kayseri (Turkey)  
 Mehmet Burçin Mutlu, Eskişehir (Turkey)  
 Mehmet Candan, Eskişehir (Turkey)  
 Mehmet Karaismailoğlu, Siirt (Turkey)  
 Mehmet Sağıroğlu, Sakarya (Turkey)  
 Mehmet Sincik, Bursa (Turkey)  
 Mehmet Tekin Sivas (Turkey)  
 Mehmet Yavuz Paksoy, Tunceli (Turkey)  
 Mehmet Zülfi Yıldız, İzmir (Turkey)  
 Mehtap Usta, Trabzon (Turkey)  
 Menderes Çenet, Osmaniye (Turkey)  
 Meral Yılmaz Cankılıç, Eskişehir (Turkey)  
 Mesut Kırmacı, Aydın (Turkey)  
 Metin Armağan, Aydın (Turkey)  
 Mikail Açar, Tunceli (Turkey)  
 Mohammed Merzouki, Fez (Morocco)  
 Muammer Bahşi, Elazığ (Turkey)  
 Muhammad Sarwar, Jam (Pakistan)  
 Muhammad Yasin Ashraf, (Pakistan)  
 Muhammed Mesud, Hürkul Ankara (Turkey)  
 Muhittin Dinç, Konya (Turkey)  
 Murat Alan, Karabük (Turkey)  
 Murat Kürşat, Bitlis (Turkey)  
 Murat Olgun, Eskişehir (Turkey)  
 Murat Turan, Denizli (Turkey)  
 Mustafa Ateş, İzmir (Turkey)  
 Mustafa Korkmaz, Erzincan (Turkey)  
 Mustafa Yamaç, Eskişehir (Turkey)  
 Mutlu Gültepe, Giresun (Turkey)  
 Müge Sayitoğlu, İstanbul (Turkey)  
 Nalan Yılmaz Sarıöz, Eskişehir (Turkey)  
 Naşit İğci, Nevşehir (Turkey)  
 Nazmi Polat, Samsun (Turkey)  
 Necdet Değermenci, Kastamonu (Turkey)  
 Necmi İşler, Hatay (Turkey)  
 Nesil Erteron, Eskişehir (Turkey)  
 Nilsun Demir, Ankara (Turkey)  
 Nural Karagözü, Manisa (Turkey)  
 Nurcan Yiğit, Kastamonu (Turkey)  
 Nurdilek Gülmezoğlu, Eskişehir (Turkey)  
 Nurhayat Dalkıran, Bursa (Turkey)  
 Nuri Öner, Çankırı (Turkey)  
 Nursel Aşan Baydemir, Kırıkkale (Turkey)  
 Nursel Aşan Baydemir, Kırıkkale (Turkey)  
 Oğuzhan Kaygusuz, Denizli (Turkey)  
 Olga Sak, Balıkesir (Turkey)  
 Onur Koyuncu, Eskişehir (Turkey)  
 Ömer Çeçen, Karaman (Turkey)  
 Ömer Koray Yaylacı, Eskişehir (Turkey)  
 Özgür Emiroğlu, Eskişehir (Turkey)  
 Perihan Kendirci, İzmir (Turkey)  
 Rasime Demirel, Eskişehir (Turkey)  
 Recep Sulhi Özkütük, Eskişehir (Turkey)  
 Rıza Binzet, Mersin (Turkey)  
 Rıza Binzet, Mersin (Turkey)  
 Robert Angus, London (England)  
 Saleem Ahmad, Islamabad (Pakistan)  
 Salim Serkan Güçlü, Isparta, (Turkey)  
 Salman Khan, Uttarkhand (India)  
 Saye Nihan Çabuk, Eskişehir (Turkey)  
 Seda Erkan Buğday, Kastamonu (Turkey)  
 Seher Karaman Erkul, Aksaray (Turkey)  
 Selami Selvi, Balıkesir (Turkey)  
 Selen İlgün, Kayseri (Turkey)  
 Selima Khatun, West Bengal (India)  
 Selma Helli, Sakarya (Turkey)  
 Serap Pulatsü, Ankara (Turkey)  
 Serdar Aslan, Düzcce (Turkey)  
 Serdar Gökhan Şenol, İzmir (Turkey)  
 Serdar Makbul, Rize (Turkey)  
 Serkan Gülsoy, Isparta (Turkey)



**Hakemler/ Reviewer**

Servet Arslan, Antalya (Turkey)  
 Sevda Kırbag, Elazığ (Turkey)  
 Sevda Turkis, Ordu (Turkey)  
 Sevil Sungur, Nevşehir (Turkey)  
 Seyit Ahmet Sargın, Alanya (Turkey)  
 Sezgin Özden, Çankırı (Turkey)  
 Shyam Singh Yadav, Lae (New Guinea)  
 Sinan Güner, Artvin (Turkey)  
 Snejana Doncheva, Sofia (Bulgaria )  
 Soner Çetinkaya, Isparta (Turkey)  
 Sumaira Sahren, Islamabad (Pakistan)  
 Sunil Kumarkhan, Magra, Hooghly (India)  
 Şahane F. Arslanoğlu, Samsun (Turkey)

Şebnem Şimşek, İzmir (Turkey)  
 Şengül Aksan, Akseki-Antalya (Turkey)  
 Şeniz Karabıyıklı, Tokat (Turkey)  
 Sulhi Özkütük, Eskişehir (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)  
 Tuğba Ongun Sevindik, Sakarya (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 Dağlıoğlu, 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:** Ersin YÜCEL, Mine YÜCEL

**Yayın Editörü/ Production Editor:** İlkin YÜCEL ŞENGÜN

**Mizapaj Editörü/Layout Editor:** Dilge YÜCEL

**Yazım ve Dil Editörü:** Mine YÜCEL,

**Veb düzeni/Web Consultant:** Alper YARGIÇ, Didem AYDAN,  
 Gülsultan ÇAVUŞOĞLU

**Teknik Editör/Technical Editor:** Recep Sulhi ÖZKÜTÜK

**Editörlük Ofisi/Editorial Office:** Yasemin YÜCEL, Umut KILINÇ

**Abonelik Yöneticisi:** Yasemin YÜCEL,

**Kapak Düzeni/ Cover Layout:** Mine YÜCEL

**Genel Sekreter/Secretary:** Faik CEYLAN

**Baskı/Printing Press:** Cetemenler, Eskişehir/Turkey



## Tabanidae (Insecta: Diptera) fauna of Kırıkkale province

Ferhat ALTUNSOY<sup>1\*</sup>, Bahriye AYZAZ<sup>1</sup>

ORCID: 0000-0003-1064-1541; 0000-0002-3967-1608

<sup>1</sup> Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 26470, Eskişehir, Turkey

### Abstract

The article presents the horsefly fauna (Diptera: Tabanidae) of the Kırıkkale province, Turkey. During the active periods in 2019 and 2020 a total of 2908 horseflies representing 40 species and classified in 3 subfamily. 36 species of these 40 samples are firstly recorded from Kırıkkale. The most common subfamily is Tabaninae represented with 34 species, followed by the subfamily Pangoninae-1 and Chrysopsinae-5 species, respectively. Species collected in pastures, highlands, forestlands, rural and urban areas around Kırıkkale province with Malaise and Nzi traps which were baited with 1-octen-3-ol. Worldwide distribution of the collected species is also given. Species except the *Tabanus bromius* Linnaeus, 1758, *Haematopota kemali* SZILADY, 1923, *Tabanus spectabilis* LOEW, 1858 and *Tabanus regularis* JAENNICKE, 1866 are firstly recorded from Kırıkkale.

**Keywords:** Diptera, Tabanidae, fauna, Kırıkkale, Turkey

----- \* -----

## Kırıkkale ili tabanidae (Insecta: Diptera) faunası

### Özet

Yapılan bu çalışmada, 2019-2020 yılları arasında Kırıkkale İli ve çevresinde bulunan Tabanidae üyeleri belirlenmiştir. Ergin birey yoğunluğunun yüksek olduğu bahar ve yaz aylarında, farklı yüksekliklerde bulunan mera ve otlaklara, dağlık ve ormanlık bölgelere, kırsal ve kentsel yerleşim bölgelerinin çevrelerine konuşlandırılan tuzaklar ile toplamda 2908 at sineği toplanmıştır. En yaygın alt familya olan Tabaninae alt familyasından 34, Pangoninae alt familyasından 1, Chrysopsinae alt familyasından 5 olmak üzere Tabanidae familyasına ait toplam 40 tür tespit edilmiştir. Tespit edilen bu 40 türün 36'sı Kırıkkale'den ilk kez bu çalışmayla bildirilmiştir. Bu türlerin toplandıkları noktalarla birlikte dünya üzerindeki dağılışları da verilmiştir. Tespit edilen türlerden *Tabanus bromius* LINNAEUS, 1758, *Haematopota kemali* SZILADY, 1923, *Tabanus spectabilis* LOEW, 1858 and *Tabanus regularis* JAENNICKE, 1866 dışındaki türler Kırıkkale İlinden ilk kez bildirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Diptera, Tabanidae, Fauna, Kırıkkale, Türkiye

### 1. Introduction

Tabanidae family consist of dangerous species which impact on public health and sustainability of livestock due to transmitting viruses, bacteria, protozoans and helminths, which cause diseases in wild and domestic animals and humans [8, 10, 12, 22, 31]. Systematic researches on vector organisms provide understanding, predicting and controlling insect-borne diseases [6]. Although they are known as vector organisms worldwide, horseflies are also important regulators of ecosystems that have an essential role in pollination [29, 13].

Approximately 4300 species belonging to 137 genera of horse flies have been described worldwide [11]. Tabanidae represented 176 species and 15 subspecies in Turkey. The faunistic researches of Tabanidae in Turkey

studied intensively for the last years which provide distribution and habitat demands of horseflies [1-5, 7, 17, 19- 21, 32].

The purpose of this study is to determine the distribution of Tabanidae family in the Kırikkale province which is located in the Central Anatolia and has extensive rural areas. Tabanidae fauna of Kırikkale was investigated for the first time with present study and 40 species belonging to Tabanidae family was reported.

## 2. Materials and methods

The study was conducted in the Kırikkale province of Turkey placed in Central Anatolia during active periods of horseflies from 2019- 2020. Adult specimens collected with Malaise, Nzi and water traps at 32 different localities in pastures, highlands, forestlands, rural and urban areas around the Kırikkale (Fig.1). Malaise and Nzi traps are baited with 1-octen-3-ol. Collected specimens identified according to the keys [10, 27, 30]. Worldwide and Turkey distribution of each species is summarized according to [9, 10] and recent updates of Fauna Europaea, Global Species and the Catalogue of Life. Systema Dipterorum. Identified specimens are preserved in the Zoological Museum of Eskişehir Technical University.

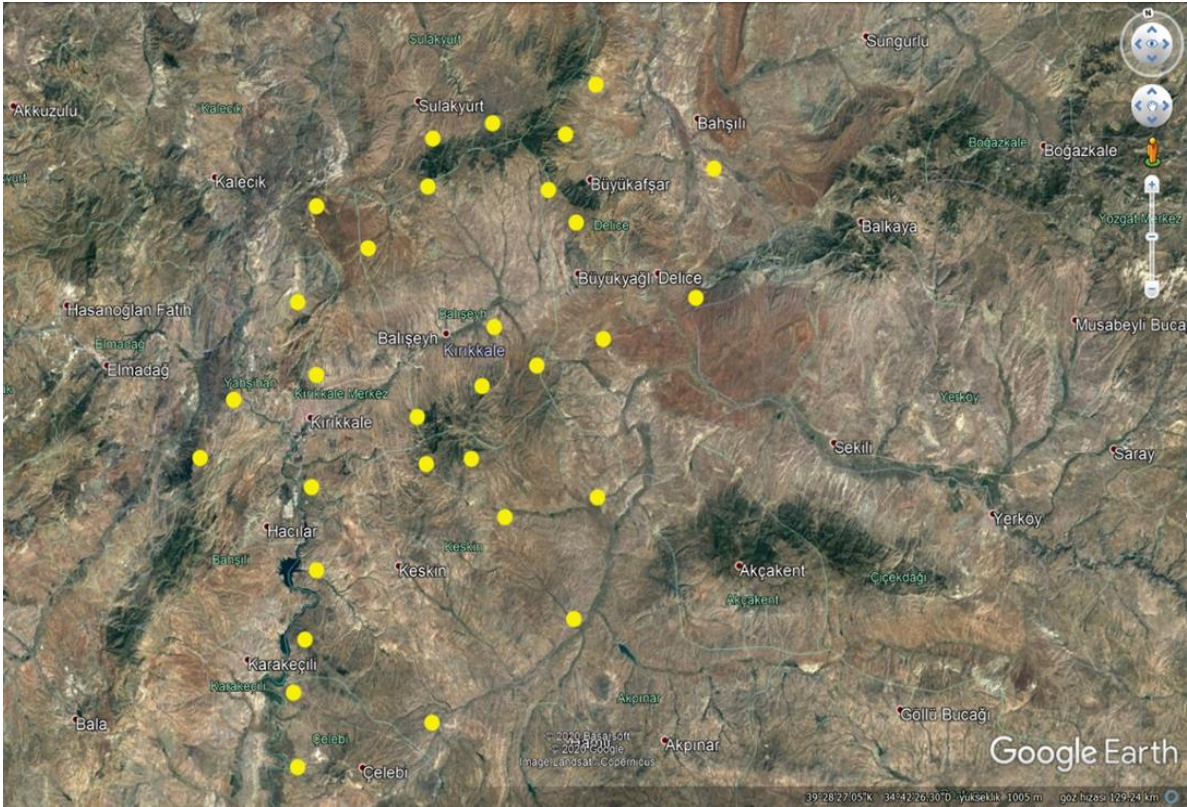


Figure 1: Collection area of horseflies

## 3. Results

Total 2908 horsefly species collected during the study at 32 different localities in Kırikkale. All collected specimens classified into 40 species belonged to 3 subfamily. The most abundant species is *Tabanus bromius* with %34,97 and followed by *Tabanus miki* %14,03; *Tabanus bifarius* %6,74 (Table 1). The list of the determined horsefly species, including localities, dates, numbers, worldwide and Turkey distribution are presented below.

**Alt Familya:** PANGONINAE

**Tribus:** Pangoniini

**1. *Pangonius* (s. str.) *pyritosus* (Loew, 1859)**

**Material examined:** Keskin, 1397 m, 29.07.2019, 3 ♀♀, 1433 m, 31.07.2019, 1 ♀♀; Delice, 1224 m, 09.07.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Bulgaria, Greek Mainland, Hungary, Macedonia, Romania, South European Russia, Ukraine, West Russia

**Distribution in Turkey:** Amasya, Bayburt, Bursa, Çanakkale, Edirne, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Hakkâri, İstanbul, Kırklareli, Samsun.

**Alt Familya:** CHRYSOPSINAE

**Tribus:** Chrysopsini

**2. *Chrysops (s. str.) caecutiens* (Linnaeus, 1761)**

**Material examined:** Keskin, 1556 m, 29.07.2019, 5 ♀♀; 1410 m, 30.07.2019, 4 ♀♀; Delice, 1251 m, 03.08.2019, 1 ♀♀; 1251 m, 04.09.2019, 2 ♀♀; Sulakyurt, 1153 m, 13.07.2020, 1 ♀♀; 1292 m 14.07.2020, 3 ♀♀; Bahşili, 1407 m, 17.07.2019, 5 ♀♀; Çelebi, 1246 m, 27.08.2019, 1 ♀♀; 1427 m, 22.07.2020 4 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Balearic Is., Belarus, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, Dodekánisos (Dodecanese Is.), East Palaearctic, Estonia, European Turkey, Finland, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Ireland, Italian mainland, Kiklâdes (Cyclades Is.), Kriti (Crete), Latvia, Liechtenstein, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Near East, North European Russia, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sardinia, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Vóreion Aiyáion (North Aegean Is.), Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adiyaman, Afyon, Amasya, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Bartın, Bayburt, Bingöl, Bolu, Burdur, Bursa, Çanakkale, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Giresun, Gümüşhane, Hakkari, İçel, İstanbul, Karabük, Kars, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muğla, Muş, Nevşehir, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Sivas, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Uşak, Yalova, Zonguldak.

**3. *Chrysops (s. str.) flavipes* MEIGEN, 1804**

**Material examined:** Yahşihan, 1202 m, 14.08.2019, 3 ♀♀; Keskin, 1431 m, 18.09.2019, 5 ♀♀; 1563 m, 5 ♀♀; Sulakyurt, 14.07.2020, 1322 m, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Bulgaria, Croatia, Cyprus, Czech Republic, East Palaearctic, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Near East, North Africa, Oriental region, Portuguese mainland, Romania, Sicily, Slovakia, South European Russia, Spanish mainland, Former Yugoslavia

**Distribution in Turkey:** Adana, Adapazarı, Adiyaman, Ağrı, Afyon, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Bayburt, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Diyarbakır, Edirne, Elâzığ, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Hakkâri, Hatay, Iğdır, İçel, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Karabük, Kars, Kırklareli, Konya, Kütahya, Manisa, Malatya, Muğla, Nevşehir, Niğde, Sinop, Sivas, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Uşak, Yozgat, Zonguldak.

**4. *Chrysops (s. str.) italicus* MEIGEN, 1804**

**Material examined:** Bahşili, 1271 m, 19.08.2019, 2 ♀♀; Delice, 1131 m, 04.09.2019, 1 ♀♀; 1209 m, 2 ♀♀; Çelebi, 21.07.2020, 1276 m, 4 ♀♀; 22.07.2020, 1443 m, 5 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Corsica, Croatia, Cyprus, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Near East, North Africa, Romania, Sardinia, Sicily, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Ankara, Antalya, Çanakkale, İzmir.

**5. *Chrysops (Petersenchrysops) buxtoni* AUSTEN, 1922**

**Material examined:** Keskin, 1254 m, 31.07.2019, 2 ♀♀; 1624 m, 01.08.2019, 4 ♀♀; 1556 m, 08.07.2020, 4 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 23.08.2019, 1 ♀♀; Delice, 1052 m, 04.09.2019, 1 ♀♀; Sulakyurt, 14.07.2020, 1165 m, 2 ♀♀; Balışeyh, 15.07.2020, 1298 m, 4 ♀♀; Keskin, 958 m, 25.08.2020, 1 ♀♀; 1625 m, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Israel, Iraq, Turkey

**Distribution in Turkey:** Ankara, Elazığ, Eskişehir, İçel, Kırşehir, Konya.

**6. *Chrysops (Petersenchrysops) hamatus* LOEW, 1858**

**Material examined:** Sulakyurt, 1050 m, 06.08.2019, 2 ♀♀; 1136 m, 21.09.2019, 3 ♀♀; Karakeçili, 910 m, 26.08.2019, 3 ♀♀; 31.08.2020, 925 m, 2 ♀♀; Yahşihan, 1050 m, 16.08.2019, 2 ♀♀; 980 m, 16.07.2020, 4 ♀♀; Bahşili, 1254 m, 21.08.2019, 3 ♀♀; 1260 m, 19.07.2020, 5 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Bulgaria, Dodekánisos (Dodecanese Is.), Near East, Turkey

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Antalya, Çankırı, Denizli, Elazığ, Eskişehir, İzmir, Muğla, Hatay.

**Alt Familya:** TABANINAE

**Tribus:** Tabanini

**7. *Atylotus flavoguttatus* (SZILADY, 1915)**

**Material examined:** Keskin, 1130 m, 31.08.2019, 3 ♀♀; 1460 m, 2 ♀♀; 1342 m, 09.07.2020, 5 ♀♀; 1338 m, 25.08.2020, 2 ♀♀; Delice, 1100 m, 04.08.2019, 4 ♀♀; 1278 m, 05.08.2019, 2 ♀♀; 980 m, 04.09.2019, 2 ♀♀; 900 m, 20.09.2019, 1 ♀♀; 1180 m, 11.07.2020, 5 ♀♀; 1046 m, 26.08.2020, 1 ♀♀; Balışeyh, 975 m, 12.08.2019, 2 ♀♀; 1315 m, 13.08.2019, 1 ♀♀; 1285 m, 15.07.2020, 4 ♀♀; 1295 m, 28.08.2020, 1 ♀♀; Çelebi, 1426 m, 21.07.2020, 3 ♀♀; 1449 m, 22.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Austria, Croatia, European Turkey, French mainland, Hungary, Moldova, Near East, North Africa, Portuguese mainland, Romania, South European Russia, Spanish mainland, Ukraine



**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Balıkesir, Çanakkale, Edirne, Eskişehir, İstanbul, Kırklareli, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Tekirdağ, Yozgat.

**8. *Atylotus hendrixi* LECLERCQ, 1967**

**Material examined:** Keskin, 1682 m, 30.07.2019, 8 ♀♀; 1710 m, 01.08.2019, 6 ♀♀; 1486 m, 18.09.2019, 3 ♀♀; 1547 m, 08.07.2020, 11 ♀♀; 1710 m, 09.07.2020, 7 ♀♀; Balışeyh, 1325 m, 12.08.2019, 5 ♀♀; 1449 m, 15.07.2020, 8 ♀♀; 1690 m, 28.08.2020, 3 ♀♀; Sulakyurt, 1207 m, 07.08.2019, 6 ♀♀; 1318 m, 09.08.2019, 3 ♀♀; 1320 m, 14.07.2020, 8 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Turkey, Iran.

**Distribution in Turkey:** Adana, Afyon, Ankara, Artvin, Burdur, Erzurum, Eskişehir, Hakkari, Kayseri, Konya, Trabzon, Van, Yozgat.

**9. *Atylotus rusticus* (LINNAEUS, 1761)**

**Material examined:** Delice, 1290 m, 04.08.2019, 2 ♀♀; Keskin, 1687 m, 09.07.2020, 3 ♀♀; 1701 m, 25.08.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, East Palaearctic, Estonia, European Turkey, Finland, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Lithuania, Luxembourg, North Africa, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Romania, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Ankara, Eskişehir, Trakya Bölgesi.

**10. *Theriopectes tricolor* ZELLER, 1842**

**Material examined:** Bahşili, 1529 m, 20.08.2019, 1 ♀♀; Keskin, 1695 m, 18.09.2019, 2 ♀♀; Balışeyh, 1458 m, 15.07.2020, 4 ♀♀; 1650 m, 28.07.2020, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Bulgaria, European Turkey, Greek mainland, Italian mainland, Near East, Romania, Sicily, South European Russia, Vóreion Aiyáion (North Aegean Is.)

**Distribution in Turkey:** Aksaray, Amasya, Ankara, Artvin, Bayburt, Bilecik, Bursa, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, İzmir, Kayseri, Kütahya, Muğla, Muğla, Nevşehir, Niğde, Tekirdağ, Uşak, Yozgat.

**11. *Hybomitra caucasi* (SZILADY, 1923)**

**Material examined:** Yahşihan, 1116 m, 14.08.2019, 2 ♀♀; Karakeçili, 911 m, 20.07.2020, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** European Turkey, Near East, Romania, Russia

**Distribution in Turkey:** Ankara, Çanakkale, Erzurum, Hakkari, İstanbul, Kırklareli, Kuzey Anadolu Dağları, Tekirdağ.

**12. *Tabanus autumnalis* LINNEAUS, 1761**

**Material examined:** Delice, 1148 m, 04.08.2019, 4 ♀♀; 1346 m, 05.09.2019, 3 ♀♀; 1266 m, 11.07.2020, 6 ♀♀; Balışeyh, 1535 m, 15.07.2010, 1 ♀♀; Sulakyurt, 1264 m, 08.08.2019, 3 ♀♀; 1324 m, 02.09.2019, 5 ♀♀; 1333 m, 13.07.2020, 9 ♀♀; 1225 m, 14.07.2020, 5 ♀♀; 1243 m, 27.08.2020, 2 ♀♀; Keskin, 1085 m, 31.07.2019, 7 ♀♀; 1312 m, 01.08.2019, 2 ♀♀; 1655 m, 08.07.2020, 8 ♀♀; Çelebi, 1348 m, 29.08.2019, 2 ♀♀; 1450 m, 22.07.2020, 4 ♀♀; 1236 m, 01.09.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Balearic Is., Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Corsica, Croatia, Cyprus, Czech Republic, Danish mainland, East European Russia, East Palaearctic, Estonia, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Malta, Near East, North Africa, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sardinia, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Afyon, Aksaray, Amasya, Ankara, Artvin, Balıkesir, Bayburt, Bilecik, Bolu, Burdur, Bursa, Çanakkale, Çankırı, Çorum, Denizli, Diyarbakır, Edirne, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Giresun, Hatay, Iğdır, İstanbul, İzmir, Kars, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Malatya, Muğla, Nevşehir, Niğde, Ordu, Sinop, Tekirdağ, Trabzon, Tunceli, Uşak, Van, Yozgat, Zonguldak.

**13. *Tabanus bifarius* LOEW, 1858**

**Material examined:** Keskin, 1512 m, 29.07.2019, 14 ♀♀, 3 ♂♂; 1682 m, 31.07.2019, 20 ♀♀; 1713 m, 19.09.2019, 1 ♀♀; 1426 m, 08.07.2020, 11 ♀♀, 3 ♂♂; 1566 m, 25.08.2020, 4 ♀♀; Delice, 1035 m, 04.08.2019, 1 ♀♀; 1311 m, 12.07.2020, 4 ♀♀; Sulakyurt, 1064 m, 07.08.2019, 2 ♀♀; 1249 m, 08.08.2019, 6 ♀♀; 1257 m, 13.07.2020, 4 ♀♀; 1322 m, 14.07.2020, 4 ♀♀; 1305 m, 27.08.2020, 2 ♀♀; Balışeyh, 1215 m, 10.08.2019, 1 ♀♀; 1385 m, 11.08.2019, 7 ♀♀, 3 ♂♂; 1428 m, 15.07.2020, 11 ♀♀; 1719 m, 28.08.2020, 7 ♀♀; Yahşihan, 1107 m, 15.08.2019, 9 ♀♀; 1250 m, 18.08.2019, 16 ♀♀; 1246 m, 24.09.2019, 1 ♀♀; 1199 m, 16.07.2020, 6 ♀♀; 1253 m, 29.07.2020, 4 ♀♀; Çelebi, 1229 m, 28.08.2019, 9 ♀♀; 1442 m, 30.08.2019, 4 ♀♀; 1356 m, 28.09.2019, 1 ♀♀; Bahşili, 1255 m, 20.08.2019, 8 ♀♀;

1539 m, 26.08.2019, 2 ♀♀; 1322 m, 17.07.2020, 5 ♀♀, 1 ♂♂; 1487 m, 19.07.2020, 6 ♀♀; 1520 m, 30.08.2020, 13 ♀♀, 3 ♂♂.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, North Africa, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Afyon, Balıkesir, Bartın, Bayburt, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, İçel, İstanbul, İzmir, İzmit, Kahramanmaraş, Kars, Kastamonu, Kayseri, Kırklareli, Kırşehir, Konya, Mardin, Muğla, Nevşehir, Niğde, Samsun, Sinop, Sivas, Tekirdağ, Yalova, Yozgat.

#### 14. *Tabanus briani* LECLERCQ, 1962

**Material examined:** Çelebi, 1339 m, 28.08.2019, 1 ♀♀; Karakeçili, 918 m, 20.07.2020, 2 ♀♀; Bahşili, 1122 m, 21.08.2019, 1 ♀♀, 1518 m, 19.07.2020, 4 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Italian mainland, Sicily, Slovakia, Slovenia, Spanish mainland

**Distribution in Turkey:** Ankara, Balıkesir, Bartın, Bolu, Bursa, Çanakkale, Düzce, , Karabük, Kastamonu, Kırklareli, Kütahya, Sinop, Tekirdağ, Zonguldak.

#### 15. *Tabanus bromius* LINNAEUS, 1758

**Material examined:** Keskin, 1212 m, 29.07.2019, 26 ♀♀, 3 ♂♂; 1343 m, 30.07.2019, 8 ♀♀; 1609 m, 31.07.2019, 38 ♀♀; 1716 m, 01.08.2019, 18 ♀♀, 1 ♂♂; 1626 m, 19.08.2019, 13 ♀♀; 08.07.2020, 1348 m, 16 ♀♀, 1 ♂♂; 1710 m, 26 ♀♀, 3 ♂♂; 1695 m, 25.08.2020, 27 ♀♀, 3 ♂♂; Delice, 1235 m, 03.08.2019, 14 ♀♀; 1344 m, 05.08.2019, 25 ♀♀, 4 ♂♂; 1304 m, 05.09.2019, 17 ♀♀, 2 ♂♂; 1240 m, 20.09.2019, 8 ♀♀, 1264 m, 11.07.2020, 36 ♀♀, 3 ♂♂; 1343 m, 26.08.2020, 21 ♀♀; Sulakyurt, 1064 m, 06.08.2019, 20 ♀♀; 1294 m, 09.08.2019, 17 ♀♀; 1143 m, 01.09.2019, 9 ♀♀; 1257 m, 13.07.2020, 46 ♀♀, 4 ♂♂; 1304 m, 14.07.2019, 23 ♀♀, 2 ♂♂; 1324 m, 27.08.2020, 14 ♀♀; Bahşeyh, 1215 m, 11.08.2019, 11 ♀♀, 1 ♂♂; 1340 m, 23.09.2019, 7 ♀♀; 1476 m, 15.07.2020, 43 ♀♀, 6 ♂♂; Yahşihan, 1226 m, 14.08.2019, 31 ♀♀; 1253 m, 16.08.2019, 22 ♀♀; 1200 m, 16.07.2020, 29 ♀♀, 3 ♂♂; Bahşili, 1442 m, 19.08.2019, 23 ♀♀; 1539 m, 21.08.2019, 26 ♀♀, 2 ♂♂; 1520 m, 17.07.2020, 36 ♀♀, 2 ♂♂; 1504 m, 30.08.2020, 31 ♀♀, 2 ♂♂; Karakeçili, 890 m, 23.08.2019, 33 ♀♀, 3 ♂♂; 930 m, 26.08.2019, 19 ♀♀; 846 m, 27.09.2019, 8 ♀♀; 900 m, 20.07.2020, 29 ♀♀, 1 ♂♂; 796 m, 31.08.2020, 16 ♀♀; Çelebi, 1205 m, 27.08.2019, 34 ♀♀, 2 ♂♂; 1347 m, 29.08.2019, 28 ♀♀; 1449 m, 31.08.2019, 17 ♀♀, 3 ♂♂; 1050 m, 28.09.2019, 4 ♀♀, 1148 m, 21.07.2020, 37 ♀♀, 4 ♂♂; 1429 m, 22.07.2020, 41 ♀♀, 3 ♂♂; 1417 m, 01.09.2020, 12 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, East European, Russia, East Palaearctic, Estonia, European Turkey, Finland, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Ireland, Italian mainland, Latvia, Liechtenstein, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Moldova, Near East, North Africa, North European Russia, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sardinia, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Adıyaman, Afyon, Ağrı, Aksaray, Amasya, Ankara, Antalya, Artvin, Aydın, Balıkesir, Bartın, Bayburt, Bilecik, Bitlis, Bolu, Bursa, Çankırı, Çorum, Denizli, Diyarbakır, Edirne, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, Giresun, Gümüşhane, Hakkari, Hatay, Isparta, İçel, İzmir, Kahramanmaraş, Kars, Kayseri, Kırıkkale, Kırklareli, Kırşehir, Konya, Kütahya, Malatya, Muğla, Muş, Nevşehir, Niğde, Ordu, Rize, Sakarya, Sakarya, Samsun, Siirt, Sinop, Sivas, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Tunceli, Uşak, Van, Yalova.

#### 16. *Tabanus cordiger* MEIGEN, 1820

**Material examined:** Keskin, 1650 m, 29.07.2019, 2 ♀♀; 1478 m, 18.08.2019, 4 ♀♀; 1390 m, 25.08.2020, 5 ♀♀; Çelebi, 1312 m, 28.08.2019, 2 ♀♀; 1287 m, 21.07.2020, 1 ♀♀; 1400 m, 01.09.2020, 1 ♀♀; Bahşili, 1150 m, 20.08.2019, 4 ♀♀; 1532 m, 22.08.2019, 2 ♀♀; 1148 m, 18.07.2020, 1 ♀♀; Bahşeyh, 1714 m, 28.08.2020, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Canary Is., Central European Russia, Croatia, Czech Republic, East European Russia, European Turkey, Finland, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Lithuania, Macedonia, Near East, North Africa, Northwest European Russia, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Afyon, Ankara, Balıkesir, Bilecik, Bolu, Bursa, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, İçel, Kırklareli, Kütahya, Yozgat.

#### 17. *Tabanus eggeri* SCHİNERİ, 1868

**Material examined:** Sulakyurt, 1235 m, 13.07.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 1252 m, 16.08.2019, 2 ♀♀; 1080 m, 16.07.2020, 4 ♀♀; 1236 m, 29.08.2020, 1 ♀♀; Karakeçili, 930 m, 20.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Italian mainland, Near East, North Africa, Portuguese mainland, Spanish mainland, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Adapazarı, Afyon, Ankara, Antalya, Balıkesir, Bartın, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Edirne, Eskişehir, Hakkari, İçel, İstanbul, İzmit, Kırklareli, Konya, Kütahya, Nevşehir, Niğde, Sinop, Tekirdağ, Yalova, Yozgat.

**18. *Tabanus exlusus* PANDELLE, 1883**

**Material examined:** Keskin, 1249 m, 01.08.2019, 4 ♀♀; 1387 m, 18.09.2019, 1 ♀♀; 1310 m, 08.07.2020, 5 ♀♀; Delice, 1105 m, 04.09.2019, 1 ♀♀; 1250 m, 26.08.2020, 4 ♀♀; Balışeyh, 1264 m, 15.07.2020, 3 ♀♀; 1685 m, 28.08.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Spanish mainland, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Ankara, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Denizli, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Hakkari, İçel, İzmir, Kayseri, Kırklareli, Konya, Konya, Kütahya, Muğla, Nevşehir, Samsun, Sinop, Tekirdağ, Uşak, Yalova.

**19. *Tabanus fraseri* AUSTEN, 1925**

**Material examined:** Sulakyurt, 1253 m, 02.09.2019, 1 ♀♀; 1319 m, 21.09.2019, 1 ♀♀; Karakeçili, 896 m, 23.08.2019, 2 ♀♀; Çelebi, 1269 m, 30.08.2019, 2 ♀♀; 1204 m, 01.09.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bulgaria, Croatia, European Turkey, Greek mainland, Near East

**Distribution in Turkey:** Ankara, Aydın, Balıkesir, Bilecik, Bursa, Düzce, Edirne, Eskişehir, İstanbul, İzmir, Karabük, Kastamonu, Kırklareli, Kütahya, Muğla, Tekirdağ Uşak.

**20. *Tabanus glaucopis* MEIGEN, 1820**

**Material examined:** Keskin, 1689 m, 31.08.2019, 2 ♀♀; 928 m, 18.09.2019, 1 ♀♀; 1700 m, 09.07.2020, 8 ♀♀; Delice, 1110 m, 04.09.2019, 1 ♀♀; 1315 m, 26.08.2020, 4 ♀♀; Yahşihan, 1096 m, 15.08.2019, 4 ♀♀; 1248 m, 16.08.2019, 5 ♀♀; Karakeçili, 860 m, 31.08.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, East Palaearctic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Lithuania, Macedonia, Near East, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sardinia, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adapazarı, Afyon, Ankara, Artvin, Aydın, Balıkesir, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Denizli, Düzce, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Hakkari, İçel, İstanbul, İzmir, Karabük, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muş, Niğde, Rize, Samsun, Sinop, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Uşak, Van.

**21. *Tabanus latetinctus* AUSTEN, 1920**

**Material examined:** Delice, 1348 m, 03.08.2019, 2 ♀♀; 1028 m, 11.07.2020, 4 ♀♀; Balışeyh, 1448 m, 11.08.2019, 1 ♀♀; 1710 m, 15.07.2020, 5 ♀♀; Bahşili, 1322 m, 18.07.2020, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Turkey, Iran, Afghanistan, Central Asia, Caucasia

**Distribution in Turkey:** Adana, Ankara, Artvin, Bayburt, Bilecik, Çanakkale, Çankırı, Çorum, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, Gaziantep, Gümüşhane, Hakkari, İzmir, Kayseri, Konya, Kütahya, Nevşehir, Niğde, Siirt, Sivas, Tekirdağ, Yozgat.

**22. *Tabanus lunatus* FABRICIUS, 1794**

**Material examined:** Keskin, 1560 m, 29.07.2019, 14 ♀♀; 1710 m, 30.07.2019, 8 ♀♀, 2 ♂♂; 1145 m, 18.09.2019, 1 ♀♀; 1632 m, 09.07.2020, 12 ♀♀, 2 ♂♂; 1452 m, 25.08.2020, 19 ♀♀; Delice, 1386 m, 04.08.2019, 10 ♀♀; 1214 m, 04.09.2019, 2 ♀♀; 1300 m, 11.07.2020, 22 ♀♀, 1 ♂♂; Balışeyh, 1175 m, 23.09.2019, 1 ♀♀; 1326 m, 15.07.2020, 15 ♀♀, 3 ♂♂; Yahşihan, 980 m, 14.08.2019, 8 ♀♀; 1190 m, 16.07.2020, 21 ♀♀, 3 ♂♂; Karakeçili, 795 m, 31.08.2020, 5 ♀♀; Çelebi, 1046 m, 27.08.2019, 7 ♀♀; 1345 m, 21.07.2020, 14 ♀♀, 1 ♂♂; 1322 m, 01.09.2020, 8 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, East Palaearctic, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Italian mainland, Near East, North Africa, Portuguese mainland, Romania, Slovenia, Spanish mainland, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Afyon, Amasya, Ankara, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, Hakkari, Hatay, İçel, İstanbul, İzmir, İzmit, Karabük, Kars, Kastamonu, Kayseri, Kırklareli, Konya, Kütahya, Manisa, Mardin, Muğla, Samsun, Sinop, Tekirdağ, Tokat, Uşak, Yalova.

**23. *Tabanus martinii* KRÖBER, 1928**

**Material examined:** Delice, 1178 m, 04.09.2019, 4 ♀♀; 1315 m, 26.08.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 1235 m, 16.08.2019, 2 ♀♀; 1049 m, 24.09.2019, 3 ♀♀; 1251 m, 29.08.2020, 1 ♀♀; Bahşili, 1352 m, 19.08.2019, 2 ♀♀; 1145 m, 26.09.2019, 3 ♀♀; Çelebi, 1426 m, 31.08.2019, 2 ♀♀; 1445 m, 22.07.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** European Turkey, Near East, Romania, Spanish mainland

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Aydın, Edirne, Eskişehir, Hakkari, Kırklareli Konya, Kütahya, Tekirdağ.

#### 24. *Tabanus miki* BRAUER, 1880

**Material examined:** Keskin, 1314 m, 30.07.2019, 7 ♀♀; 1694 m, 01.08.2019, 11 ♀♀; 1544 m, 08.07.2020, 19 ♀♀; 1478 m, 25.08.2020, 17 ♀♀; Delice, 1158 m, 03.08.2019, 6 ♀♀; 1338 m, 05.08.2019, 5 ♀♀; 1087 m, 04.09.2019, 3 ♀♀; 1344 m, 10.07.2020, 17 ♀♀; 1088 m, 11.07.2020, 29 ♀♀; 1255 m, 26.08.2020, 3 ♀♀; Sulakyurt, 974 m, 06.08.2019, 4 ♀♀; 1312 m, 09.08.2019, 16 ♀♀; 1233 m, 03.09.2019, 1 ♀♀; 1024 m, 13.07.2020, 23 ♀♀; 1237 m, 27.08.2020, 7 ♀♀; Balışeyh, 1075 m, 11.08.2019, 11 ♀♀; 1319 m, 13.08.2019, 18 ♀♀; 1581 m, 15.07.2020, 27 ♀♀; 1711 m, 28.07.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 1215 m, 15.08.2019, 14 ♀♀; 1252 m, 18.08.2019, 22 ♀♀; 900 m, 24.09.2019, 1 ♀♀; 1246 m, 16.07.2020, 24 ♀♀; Bahşili, 1322 m, 20.08.2019, 9 ♀♀; 1539 m, 22.08.2019, 17 ♀♀; 1447 m, 18.07.2020, 29 ♀♀; 1429 m, 30.08.2020, 3 ♀♀; Karakeçili, 790 m, 23.08.2019, 2 ♀♀; 931 m, 20.07.2020, 9 ♀♀; Çelebi, 1096 m, 28.08.2019, 6 ♀♀; 1416 m, 31.08.2019, 9 ♀♀; 1210 m, 21.07.2020, 15 ♀♀; 1422 m, 22.07.2020, 21 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, East European Russia, East Palaearctic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Lithuania, Macedonia, Near East, North European Russia, Northwest European Russia, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Ukraine

**Distribution in Turkey:** Ankara, Artvin, Balıkesir, Bartın, Bayburt, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Denizli, Düzce, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, Giresun, Hakkari, İçel, İstanbul, İstanbul, İzmir, Kars, Kastamonu, Kayseri, Kırklareli, Konya, Kütahya, Manisa, Muğla, Muğla, Nevşehir, Ordu, Samsun, Tokat, Trabzon, Uşak, Yozgat, Zonguldak.

#### 25. *Tabanus oppugnator* AUSTEN, 1925

**Material examined:** Keskin, 1710 m, 29.07.2019, 1 ♀♀; 1680 m, 08.07.2020, 3 ♀♀; Balışeyh, 1710 m, 15.07.2020, 2 ♀♀; Bahşili, 1325 m, 20.08.2019, 1 ♀♀; 1539 m, 18.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Turkey, Iran

**Distribution in Turkey:** Balıkesir, Bolu, Çanakkale, Çankırı, Elazığ, Kastamonu, Kütahya, Sinop.

#### 26. *Tabanus quatuornatatus* MEIGEN, 1820

**Material examined:** Keskin, 1335 m, 29.07.2019, 2 ♀♀; 1513 m, 08.07.2020, 6 ♀♀; 1700 m, 25.08.2020, 1 ♀♀; Delice, 1000 m, 03.08.2019, 2 ♀♀; 1317 m, 05.08.2019, 1 ♀♀; 1340 m, 11.07.2020, 5 ♀♀; Çelebi, 1196 m, 27.08.2019, 1 ♀♀; 1426 m, 30.08.2019, 2 ♀♀; 1397 m, 21.07.2020, 4 ♀♀; 1215 m, 22.07.2020, 4 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Croatia, Czech Republic, Danish Mainland, East Palaearctic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, North Africa, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Switzerland, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adana, Amasya, Ankara, Artvin, Aydın, Balıkesir, Bayburt, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Denizli, Erzurum, Eskişehir, Giresun, Gümüşhane, Hakkari, Hatay, İçel, İzmir, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muğla, Niğde, Sinop, Tekirdağ, Trabzon, Uşak, Yozgat.

#### 27. *Tabanus regularis* JAENNICKE, 1866

**Material examined:** Keskin, 1710 m, 29.07.2019, 2 ♀♀; 1680 m, 08.07.2020, 1 ♀♀; 1713 m, 25.08.2020, 2 ♀♀; Balışeyh, 1581 m, 12.08.2019, 3 ♀♀; 1315 m, 13.08.2019, 2 ♀♀; 1710 m, 15.07.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Corsica, Croatia, Cyprus, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Malta, Near East, North Africa, Portuguese mainland, Romania, Sicily, Slovakia, South European Russia, Spanish mainland

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Antalya, Aydın, Balıkesir, Bilecik, Bursa, Çanakkale, Denizli, Edirne, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, Hakkari, İçel, İstanbul, İzmir, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muğla, Tekirdağ, Yozgat.

#### 28. *Tabanus spectabilis* LOEW, 1858

**Material examined:** Sulakyurt, 1090 m, 06.08.2019, 1 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 1 ♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, North Africa, Romania, Sicily, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Ankara, Bilecik, Bolu, Çanakkale, Çankırı, Çorum, Edirne, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Giresun, İçel, Kayseri, Kırklareli, Konya, Niğde, Tekirdağ, Yozgat.



**29. *Tabanus spodopterus* MEIGEN, 1820**

**Material examined:** Keskin, 1235 m, 30.07.2019, 4 ♀♀; 1437 m, 01.08.2019, 1 ♀♀; 1355 m, 08.07.2020, 7 ♀♀; Delice, 1278 m, 04.08.2019, 2 ♀♀; 1349 m, 11.07.2020, 5 ♀♀; Sulakyurt, 1214 m, 07.08.2019, 3 ♀♀; 1324 m, 14.07.2020, 4 ♀♀; 1255 m, 27.08.2020, 1 ♀♀; Yahşihan, 1015 m, 14.08.2019, 1 ♀♀; 1252 m, 16.07.2020, 4 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Austria, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, Czech Republic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, South European Russia, Spanish mainland, Switzerland

**Distribution in Turkey:** Adapazarı, Afyon, Amasya, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Denizli, Edirne, Erzurum, Eskişehir, İçel, İstanbul, Karabük, Kars, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muğla, Tekirdağ, Trabzon, Uşak, Yalova, Zonguldak.

**30. *Tabanus tergestinus* EGGER, 1859**

**Material examined:** Keskin, 1266 m, 30.07.2019, 11 ♀♀; 1655 m, 01.08.2019, 13 ♀♀; 1530 m, 09.07.2020, 14 ♀♀; Delice, 1349 m, 03.08.2019, 9 ♀♀; 1066 m, 04.09.2019, 1 ♀♀; 1340 m, 12.07.2020, 7 ♀♀; 1278 m, 26.08.2020, 6 ♀♀; Sulakyurt, 1050 m, 06.08.2019, 8 ♀♀; 1244 m, 07.08.2019, 10 ♀♀; 1024 m, 02.09.2019, 2 ♀♀; 1388 m, 13.07.2020, 14 ♀♀; Yahşihan, 1215 m, 15.08.2019, 11 ♀♀; 1252 m, 18.08.2019, 7 ♀♀; 1250 m, 16.07.2020, 19 ♀♀; Bahşili, 1326 m, 20.08.2019, 9 ♀♀; 1539 m, 22.08.2019, 5 ♀♀; 1400 m, 17.07.2020, 4 ♀♀; 1258 m, 30.08.2020, 3 ♀♀; Çelebi, 1396 m, 27.08.2019, 3 ♀♀; 1449 m, 22.07.2020, 11 ♀♀; 1226 m, 01.09.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Iran, Macedonia, Moldova, Near East, Poland, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Switzerland, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adapazarı, Afyon, Ankara, Antalya, Artvin, Artvin, Aydın, Balıkesir, Bartın, Bolu, Bursa, Edirne, Elazığ, Erzurum, Gümüşhane, Hatay, İçel, İstanbul, Kastamonu, Kırklareli, Muğla, Ordu, Samsun, Sinop, Tekirdağ, Yalova, Zonguldak.

**31. *Tabanus unifasciatus* LOEW, 1858**

**Material examined:** Keskin, 1680 m, 29.07.2019, 5 ♀♀; 1700 m, 08.07.2020, 9 ♀♀; 1550 m, 09.07.2020, 4 ♀♀; Bahşili, 1522 m, 19.08.2019, 1 ♀♀; 1510 m, 17.07.2020, 9 ♀♀; 1490 m, 18.07.2020, 7 ♀♀; Çelebi, 1449 m, 21.07.2020, 3 ♀♀; 1350 m, 22.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, European Turkey, French mainland, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Moldova, Near East, North Africa, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Switzerland, Ukraine

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ağrı, Amasya, Ankara, Antalya, Artvin, Aydın, Balıkesir, Bayburt, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çorum, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, Hakkari, Hatay, İçel, Kahramanmaraş, Karabük, Kastamonu, Kırklareli, Kırşehir, Kütahya, Muğla, Nevşehir, Niğde, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Sivas, Tekirdağ, Tokat, Uşak, Van.

**32. *Haematopota bigoti* GOBERT, 1880**

**Material examined:** Keskin, 1150 m, 30.07.2019, 1 ♀♀; 1364 m, 08.07.2020, 2 ♀♀; 1700 m, 09.07.2020, 1 ♀♀; Yahşihan, 1230 m, 16.07.2020, 1 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Austria, Britain I., Croatia, Danish mainland, European Turkey, French mainland, Germany, Hungary, Italian mainland, Near East, North Africa, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Spanish mainland, Sweden, The Netherlands, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Balıkesir, Çanakkale, Edirne, Elazığ, Kars, Kırklareli, Konya, Kütahya, Tekirdağ, Yozgat.

**33. *Haematopota hennauxi* LECLERCQ, 1967**

**Material examined:** Keskin, 1150 m, 31.07.2019, 1 ♀♀; 1450 m, 08.07.2020, 2 ♀♀; Sulakyurt, 1217 m, 06.08.2019, 1 ♀♀; 1300 m, 13.07.2020, 2 ♀♀; Balışeyh, 1275 m, 10.08.2019, 1 ♀♀; 1385 m, 15.07.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 1252 m, 16.07.2020, 1 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 3 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Turkey.

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Bolu, Çorum, Elazığ, Eskişehir, Konya, Yozgat.

**34. *Haematopota italica* MEIGEN, 1804**

**Material examined:** Keskin, 1240 m, 29.07.2019, 1 ♀♀; 08.07.2020, 3 ♀♀; 1688 m, 09.07.2020, 1 ♀♀; Delice, 1060 m, 03.08.2019, 1 ♀♀; 1278 m, 11.07.2020, 2 ♀♀; 1349 m, 12.07.2020, 1 ♀♀; Sulakyurt, 1324 m, 13.07.2020, 2 ♀♀; Balışeyh, 1581 m, 15.07.2020, 1 ♀♀; Bahşili, 1122 m, 19.08.2019, 1 ♀♀; 1530 m, 18.07.2020, 2 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 1 ♀♀; Çelebi, 1426 m, 21.07.2020, 2 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, East European Russia, Estonia, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Liechtenstein, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Near East, Northwest European Russia, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Adapazarı, Ankara, Balıkesir, Bartın, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, Çankırı, Çorum, Diyarbakır, Düzce, Edirne, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, İçel, Karabük, Kastamonu, Kırklareli, Kütahya, Malatya, Muğla, Samsun, Sinop, Tokat, Trabzon, Zonguldak.

### 35. *Haematopota kemali* SZILADY, 1923

**Material examined:** Keskin, 1040 m, 29.07.2019, 1 ♀♀; 1280 m, 08.07.2020, 3 ♀♀; Delice, 1278 m, 11.07.2020, 2 ♀♀; 1147 m, 26.08.2020, 1 ♀♀; Sulakyurt, 970 m, 06.08.2019, 2 ♀♀; 1224 m, 08.08.2019, 1 ♀♀; 1100 m, 13.07.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 862 m, 15.08.2019, 3 ♀♀; 1132 m, 18.08.2019, 1 ♀♀; 978 m, 16.07.2020, 4 ♀♀; Karakeçili, 791 m, 23.08.2019, 1 ♀♀; 931 m, 20.07.2020, 4 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Turkey, Near East

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Çankırı, Denizli, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, İstanbul, Konya, Nevşehir, Niğde, Tekirdağ, Yozgat.

### 36. *Haematopota pallens* LOEW, 1871

**Material examined:** Delice, 1349 m, 02.08.2019, 1 ♀♀; 1250 m, 11.07.2020, 2 ♀♀; Balışeyh, 1275 m, 11.08.2019, 1 ♀♀; 1710 m, 15.07.2020, 3 ♀♀; 1315 m, 28.08.2020, 1 ♀♀; Bahşili, 1022 m, 20.08.2019, 1 ♀♀; 1522 m, 17.07.2020, 2 ♀♀; Çelebi, 1426 m, 21.07.2020, 2 ♀♀; 1449 m, 22.07.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Afghanistan, China, East Palaearctic, Moldova, Near East, Romania, South European Russia, Ukraine, Turkey

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Balıkesir, Bilecik, Bursa, Diyarbakır, Elazığ, Eskişehir, İçel, İzmir, Kayseri, Konya, Kütahya, Malatya, Muğla.

### 37. *Haematopota pluvialis* (LINNEAUS, 1758)

**Material examined:** Keskin, 1455 m, 01.08.2019, 2 ♀♀; 1620 m, 08.07.2020, 3 ♀♀; Yahşihan, 1016 m, 15.08.2019, 2 ♀♀; 1215 m, 17.08.2019, 1 ♀♀; 1252 m, 16.07.2020, 3 ♀♀; Bahşili, 1139 m, 20.08.2019, 1 ♀♀; 1544 m, 17.07.2020, 2 ♀♀; Çelebi, 1336 m, 21.07.2020, 1 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 01.09.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Britain I., Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, Danish mainland, East European Russia, East Palaearctic, Estonia, European Turkey, Finland, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Ireland, Italian mainland, Latvia, Liechtenstein, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Moldova, Near East, North European Russia, Northwest European Russia, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sardinia, Sicily, Slovakia, Slovenia, South European Russia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, The Netherlands, Ukraine, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Bilecik, Çanakkale, Edirne, Elazığ, Eskişehir, İstanbul, Kayseri, Kırklareli, Konya, Niğde, Sivas, Tekirdağ, Yozgat.

### 38. *Haematopota sewelli* AUSTEN, 1920

**Material examined:** Keskin, 1046 m, 29.07.2019, 1 ♀♀; 1157 m, 31.07.2019, 1 ♀♀; 1240 m, 08.07.2020, 3 ♀♀; 1168 m, 25.08.2020, 2 ♀♀; Delice, 987 m, 02.08.2019, 4 ♀♀; 1201 m, 11.07.2020, 2 ♀♀; Sulakyurt, 1241 m, 07.08.2019, 3 ♀♀; 966 m, 13.07.2020, 5 ♀♀; 1324 m, 27.08.2020, 1 ♀♀; Yahşihan, 900 m, 17.08.2019, 2 ♀♀; 1215 m, 16.07.2020, 3 ♀♀; 1066 m, 29.08.2020, 1 ♀♀; Karakeçili, 690 m, 23.08.2019, 1 ♀♀; 931 m, 20.07.2020, 5 ♀♀; Çelebi, 996 m, 21.07.2020, 2 ♀♀; 1126 m, 01.09.2020, 1 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Israel, Iran, Turkey

**Distribution in Turkey:** Ankara, Çankırı, Elazığ, İzmir, Konya, Niğde, Trabzon, Yozgat.

### 39. *Dasyramphis umbrinus* (MEIGEN, 1820)

**Material examined:** Keskin, 1150 m, 31.07.2019, 8 ♀♀; 1546 m, 01.08.2019, 2 ♀♀; 1367 m, 08.07.2020, 18 ♀♀; 1580 m, 09.07.2020, 14 ♀♀; Delice, 986 m, 05.08.2019, 1 ♀♀; 1150 m, 10.07.2020, 13 ♀♀; 1349 m, 12.07.2020, 10 ♀♀; Sulakyurt, 1324 m, 13.07.2020, 8 ♀♀; Yahşihan, 1217 m, 15.08.2019, 1 ♀♀; 1350 m, 16.07.2020, 9 ♀♀; Karakeçili, 931 m, 20.07.2020, 4 ♀♀; Çelebi, 996 m, 21.07.2020, 4 ♀♀; 1434 m, 22.07.2020, 11 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, European Turkey, Greek mainland, Italian mainland, Macedonia, Near East, Romania, Slovenia, Former Yugoslavia,

**Distribution in Turkey:** Adana, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Bolu, Bursa, Bursa, Çanakkale, Çankırı, Çorum, Denizli, Edirne, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, Hakkari, İçel, İstanbul, İzmir, Kars, Kayseri, Kırklareli, Kırşehir, Konya, Kütahya, Manisa, Muğla, Muş, Nevşehir, Niğde, Osmaniye, Samsun, Sinop, Sivas, Uşak, Yalova, Yozgat.

**40. *Philipomyia aprica* (MEIGEN, 1820)**

**Material examined:** Keskin, 1264 m, 29.07.2019, 6 ♀♀; 1574 m, 01.08.2019, 4 ♀♀; 1610 m, 08.07.2020, 16 ♀♀; 1255 m, 25.08.2020, 1 ♀♀; Delice, 1036 m, 03.08.2019, 2 ♀♀; 1278 m, 11.07.2020, 12 ♀♀; 1349 m, 12.07.2020, 15 ♀♀; Sulakyurt, 1130 m, 06.08.2019, 1 ♀♀; 1063 m, 13.07.2020, 6 ♀♀; 1324 m, 14.07.2020, 19 ♀♀; Balışeyh, 1581 m, 15.07.2020, 17 ♀♀; Yahşihan, 950 m, 14.08.2019, 4 ♀♀; 1250 m, 16.07.2020, 13 ♀♀; Bahşili, 1488 m, 17.07.2020, 9 ♀♀; 1510 m, 19.07.2020, 16 ♀♀; Çelebi, 1426 m, 21.07.2020, 5 ♀♀.

**Distribution worldwide:** Albania, Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Central European Russia, Croatia, Czech Republic, European Turkey, French mainland, Germany, Greek mainland, Hungary, Italian mainland, Liechtenstein, Macedonia, Near East, Poland, Portuguese mainland, Romania, Slovakia, Slovenia, Spanish mainland, Switzerland, Former Yugoslavia.

**Distribution in Turkey:** Afyon, Ankara, Antalya, Artvin, Balıkesir, Bayburt, Bingöl, Bolu, Bursa, Çanakkale, Erzurum, Eskişehir, Hakkari, İçel, İstanbul, Kars, Kastamonu, Kırklareli, Konya, Kütahya, Muş, Tekirdağ, Yalova.

Table 1. Species and numbers of horse flies collected in Kırkkale during 2019 and 2020

No	Species name	Number	%
1	<i>Pangonius pyritosus</i>	5	0,17
2	<i>Chrysops caecutiens</i>	26	0,89
3	<i>Chrysops flavipes</i>	16	0,55
4	<i>Chrysops italicus</i>	14	0,48
5	<i>Chrysops buxtoni</i>	22	0,75
6	<i>Chrysops hamatus</i>	24	0,82
7	<i>Atylotus flavoguttatus</i>	40	1,37
8	<i>Atylotus hendrixii</i>	68	2,33
9	<i>Atylotus rusticus</i>	6	0,20
10	<i>Theriopectes tricolor</i>	10	0,34
11	<i>Hybomitra caucasi</i>	5	0,17
12	<i>Tabanus autumnalis</i>	62	2,13
13	<i>Tabanus bifarius</i>	196	6,74
14	<i>Tabanus brianii</i>	8	0,27
15	<i>Tabanus bromius</i>	1017	34,97
16	<i>Tabanus cordiger</i>	25	0,85
17	<i>Tabanus eggeri</i>	12	0,41
18	<i>Tabanus exclusus</i>	19	0,65
19	<i>Tabanus fraseri</i>	7	0,24
20	<i>Tabanus glaucopis</i>	27	0,92
21	<i>Tabanus latetinctus</i>	15	0,51
22	<i>Tabanus lunatus</i>	179	6,15
23	<i>Tabanus martinii</i>	21	0,72
24	<i>Tabanus miki</i>	408	14,03
25	<i>Tabanus oppugnator</i>	9	0,30
26	<i>Tabanus quatuornatatus</i>	28	0,96
27	<i>Tabanus regularis</i>	11	0,37
28	<i>Tabanus spectabilis</i>	2	0,06
29	<i>Tabanus spodopterus</i>	34	1,16
30	<i>Tabanus tergestinus</i>	168	5,77
31	<i>Tabanus unifasciatus</i>	40	1,37
32	<i>Haematopota bigoti</i>	6	0,20
33	<i>Haematopota hennauxi</i>	14	0,48
34	<i>Haematopota italica</i>	18	0,61
35	<i>Haematopota kemali</i>	26	0,89
36	<i>Haematopota pallens</i>	14	0,48
37	<i>Haematopota pluvialis</i>	16	0,55
38	<i>Haematopota sewelli</i>	37	1,27
39	<i>Dasyramphis umbrinus</i>	103	3,54
40	<i>Philipomyia aprica</i>	146	5,02
<b>Total</b>		<b>2908</b>	<b>100</b>

#### 4. Conclusions and discussion

During the study total 40 horsefly species sampled and 36 species except *Tabanus bromius* Linnaeus 1758; *Tabanus regularis* JAENNICKE, 1866; *Tabanus spectabilis* LOEW, 1858; *Haematopota kemali* SZILADY, 1923 first record for Kırıkkale. *Pangonius* (s. str.) *pyritosus* (Loew, 1859); *Chrysops* (s. str.) *caecutiens* (Linnaeus, 1758); *Chrysops* (s. str.) *flavipes* MEIGEN, 1804; *Chrysops* (s. str.) *italicus* MEIGEN, 1804; *Chrysops* (Petersenchrysops) *buxtoni* AUSTEN, 1922; *Chrysops* (Petersenchrysops) *hamatus* LOEW, 1858; *Atylotus flavoguttatus* (SZILADY, 1975); *Atylotus hendrxi* LECLERCQ, 1967; *Atylotus rusticus* (LINNAEUS, 1767); *Theriopectes tricolor* ZELLER, 1842; *Hybomitra caucasi* (SZILADY, 1923); *Tabanus autumnalis* LINNAEUS, 1761; *Tabanus bifarius* LOEW, 1858; *Tabanus briani* LECLERCQ, 1962; *Tabanus cordiger* MEIGEN, 1820; *Tabanus eggeri* SCHINERİ, 1868; *Tabanus exlusus* PANDELLE, 1883; *Tabanus fraseri* AUSTEN, 1925; *Tabanus glaucopis* MEIGEN, 1936; *Tabanus latetinctus* AUSTEN, 1920; *Tabanus lunatus* FABRICIUS, 1794; *Tabanus martinii* KRÖBER, 1928; *Tabanus miki* BRAUER, 1880; *Tabanus oppugnator* AUSTEN, 1925; *Tabanus quatuornatus* MEIGEN, 1820; *Tabanus spodopterus* MEIGEN, 1820; *Tabanus tergestinus* EGGER, 1859; *Tabanus unifasciatus* LOEW, 1858; *Haematopota bigoti* GOBERT, 1881; *Haematopota hennauxi* LECLERCQ, 1967; *Haematopota italica* MEIGEN, 1804; *Haematopota pallens* LOEW, 1870; *Haematopota pluvialis* (LINNAEUS, 1761); *Haematopota sewelli* AUSTEN, 1920; *Dasyramphis umbrinus* (MEIGEN, 1820) and *Philipomyia aprica* (MEIGEN, 1820) are reported for the first time from study area.

%34,97 adult specimens belong to *Tabanus bromius* is the most abundant and the most common species like similar studies [4, 18]. Geographical conditions, temperature and seasonal factors provide dense distribution of the *T. bromius* in Kırıkkale. *Tabanus miki* %14,03; *Tabanus bifarius* %6,74; *Tabanus lunatus* %6,15 and *Tabanus tergestinus* %5,77 followed the *Tabanus bromius* with species richness (Table 1).

Total collected specimen distribution as percentage; %56,39 in July, %38,78 in August and %4,84 in September. This is similar to the present studies about seasonal activities of horseflies. In Turkey horsefly activities begin in the middle of May and continue to the middle of September [15, 19, 23- 26, 28]. Unfortunately in May and June field studies could not be carried out because of the Covid-19 pandemic which caused the travel limitation. However specimens collected at the maximum activity periods of horseflies.

The collection localities are especially selected at the rural areas where livestock and animal husbandry are dense. Due to female tabanids are known as mechanical vectors of viruses, bacteria, protozoans and helminths that cause various diseases in wild and domestic animals [8, 12, 31], present study is also important for avoiding the spread of these diseases via Tabanids. The results of this study involve the whole tabanids distribution in the Kırıkkale. These faunistic results contribute information of the Tabanidae in Turkey and also provide prediction of probability of losses in livestock production.

#### Acknowledgements

This study was supported by the Research Foundation of Eskişehir Technical University (Project Number: 19ADP018).

#### Kaynaklar

- [1] Altunsoy, F. (2018). New records for the horse fly (Diptera: Tabanidae) fauna of Turkey and description of *Hybomitra tanatmisi* sp. nov. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42(2), 93-108.
- [2] Altunsoy, F., & Kılıç, A. Y. (2010). A new record for Turkish Tabanidae (Insecta: Diptera) fauna. *Journal of Entomological Research Society*, 12(2), 109-111.
- [3] Altunsoy, F., & Kılıç, A. Y. (2011). New data about *Tabanus karaosus* Timmer, 1984 (Diptera: Tabanidae) from Turkey. *Journal of Entomological Research Society*, 13(1), 75-80.
- [4] Altunsoy, F., & Kılıç, A. Y. (2012). Seasonal Abundance of Horse Fly Diptera Tabanidae in Western Anatolia. *Journal of Entomological Research Society*, 14(1), 95-105.
- [5] Altunsoy, F., Kılıç, A. Y., & Gören, T. (2010). Düzce İli Tabanidae (Diptera: Insecta) faunası. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 14(1), 29-32.
- [6] Barros, A. M. (2001). Seasonality and relative abundance of Tabanidae (Diptera) captured on horses in the Pantanal, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*(96), 917-923.
- [7] Büber, H., Kılıç, A. Y., & Altunsoy, F. (2011). Afyon ili Tabanidae (Insecta: Diptera) faunasına katkılar. *Afyon Kocatepe University Journal of Science*, 9(2), 43-50.
- [8] Chippaux, J. P., Bouchite, B., Demanou, M., Moralis, I., & Le Goff, G. (2000). Density and dispersal of the loaiais vector *Chrysops dimidiata* in southern Cameroon. *Medical and Veterinary Entomology*(14), 339-344.



- [9] Chvala, M. (1988). Family Tabanidae. A. Soos, & A. Papp içinde, *Catalogue of Palaearctic Diptera* (Cilt 5, s. 71-97). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers.
- [10] Chvala, M., Lyneborg, L., & Moucha, J. (1972). *The horse flies of Europe (Diptera: Tabanidae)*. Hampton: E. W. Classey Ltd.
- [11] Coscaron, S., & Martinez, M. (2019). Checklist of Tabanidae (Insecta: Diptera) from Uruguay. *Journal of Entomological Society Argentina*(78), 40-46.
- [12] Desquesnes, M., & Dia, M. L. (2004). Mechanical transmission of Trypanosoma vivax in cattle by the African tabanid Atylotus fuscipes. *Veterinary Parasitology*(14), 9-19.
- [13] Goldblatt, P., & Manning, J. C. (2000, September). Champion Pollinators. Long-proboscid Flies in a Biological System Unique to Southern Africa. *Veld and Flora*, 118-121.
- [14] Hayat, R., & Özbek, H. (1992). Doğu Anadolu Bölgesi Tabanidae (Diptera) türleri üzerine faunistik çalışmalar. *Türkiye II. Entomoloji Kongresi Bildirileri No 5*, (s. 637-646). Adana, Turkey: Entomoloji Derneği Yayınları.
- [15] Kılıç, A. Y. (1993). Eskişehir ve Çevresi Tabanus bromius L., T. exlusus Pand., T. glaucopis Meig., T. spodopterus ponticus Ols., Mch., Chv., ve Philipomyia aprica (Meig) (Diptera: Tabanidae) türlerinin mevsimsel aktiviteleri üzerine bir çalışma. *Doğa Türk Zooloji Dergisi*, 17(3), 303-310.
- [16] Kılıç, A. Y. (2005). ). Bartın, Karabük ve Zonguldak illeri Tabanidae (Diptera) faunası üzerinde araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 29(2), 51-60.
- [17] Kılıç, A. Y. (2006). New additions and errata to the checklist of Tabanidae (Insecta: Diptera) fauna of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 2(30), 335-343.
- [18] Kılıç, A. Y., & Altunsoy, F. (2011). Kastamonu ili Tabanidae (Insecta: Diptera) Faunasına Katkılar. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 1-8.
- [19] Kılıç, A. Y., & Öztürk, R. (2002). Sultandağı çevresinin Tabanidae (Diptera) Faunası üzerine çalışmalar. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(2), 307-316.
- [20] Kılıç, A. Y., & Schacht, W. (1995). Eine neue Bremsenart aus der West-Türkei (Diptera: Tabanidae). *Entomofauna Band.*, 16(10), 245-252.
- [21] Kılıç, A. Y., Altunsoy, F., & Afacan, Y. (2014). New records for Turkish Tabanidae (Insecta: Diptera) fauna. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(3), 245-253.
- [22] Krinsky, W. L. (1976). Animal disease agents transmitted by horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae). *Journal of Medical Entomology*(13), 225-275.
- [23] Leclercq, M. (1966a). *Revision systematique et biogeographique des Tabanidae (Diptera) Palearctiques, Tabaninae* (Cilt 79). Mem. Ins. Roy. Sci. Nat. Belg. II.
- [24] Leclercq, M. (1966b). Tabanidae (Diptera) de Turquie diagnosis d'Atylotus hendrixi, Haematopota coolsi, Haematopota delozi n. spp. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 1(3), 463-477.
- [25] Leclercq, M. (1967a). Tabanidae (Diptera) de Turquie, II. Diagnosis D'Hybomitra okayi, Atylotus hendrixi, et Haematopota hennauxi n. spp. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 2(1), 106-127.
- [26] Leclercq, M. (1967b). Tabanidae (Diptera) de Turquie III. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 2(4), 707-710.
- [27] Olsufjev, N. G. (1977). *The Fauna of USSR Diptera, VII, 2: Tabanidae (Faune de l'URSS insectes Dipteres, VII, 2: Tabanidae)*. Moscow, Leningrad, Russia: Institute of the Russian Academy of Sciences (Travaux de l'Institut zoologique de l'Academie des Sciences des l'URSS) New Series No. 113.
- [28] Parvu, C., & Giray, H. (1984). Contribution to the knowledge of some Tabanids (Diptera) of Turkey. *Travaux du Museum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 25, 217-225.
- [29] Ren, D. (1998). Flower-associated Brachycera flies as Fossil Evidence for Jurassic Angiosperm Origins. *Science*(280), 85-88.
- [30] Schacht, W. (1987). Ein weiterer Beitrag bremsen fauna der Türkei (Diptera: Tabanidae). *Entomofauna*, 8(33), 485-496.
- [31] Votyka, J., Brzonova, J., Jezek, J., & Modry, D. (2019, September). Horseflies (Diptera: Tabanidae) of three West African countries: A faunistic update, barcoding analysis and trypanosome occurrence. *Acta Tropica*(197).
- [32] Yücel, Ş. (1987). İç Anadolu Bölgesinde bulunan Tabanidae (Diptera) türleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.



## The native and non-native new record species for the ichthyofauna of Elekçi River (Turkey)

Serkan SAYGUN \*<sup>1</sup>

ORCID: 0000-0002-9789-3284

<sup>1</sup> Ordu University, Fatsa Faculty of Marine Sciences, Department of Fisheries Technology Engineering, 52400 Fatsa, Ordu/Turkey

### Abstract

In this study, fish species living in the Elekçi River, which poured from the borders of Fatsa District of Ordu Province to the Black Sea, were revised as taxonomic. Samplings were taken from Elekçi River using an electroshock device from six pre-determined stations in 2018. According to the results, three of the nine fish species were identified as two native and one non-native new record species for Elekçi River for the first time. These native species are *Alburnoides fasciatus* and *Neogobius fluviatilis*, belonged to two families (Leuciscidae and Gobiidae), respectively. However, other sampled species were found also to be *Capoeta banarescui*, *Barbus tauricus* (Cyprinidae), *Rhodeus amarus* (Acheilognathidae), *Alburnus derjugini*, *Squalius cephalus* (Leuciscidae) and *Ponticola turani* (Gobiidae) from four families. *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae) was the only unnatural species found in Elekçi River in this study.

**Keywords:** freshwater fishes, fish fauna, taxonomy, diversity

----- \* -----

## Elekçi Irmağı (Türkiye)'nin balık faunası için yeni kayıt doğal ve doğal olmayan türler

### Özet

Bu çalışmada Ordu İli'nin Fatsa İlçesi'nin sınırlarından Karadeniz Dökülen Elekçi Irmağı'nda yaşayan balık türleri taksonomik olarak yeniden tanımlanmıştır. Elekçi Irmağı'ndan 2018 yılında önceden belirlenen altı istasyondan elektroşoker kullanılarak örneklemeler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Elekçi Irmağı'nda belirlenen dokuz türden iki tür ve doğal olmayan bir tür yeni kayıt olarak tespit edilmiştir. Bu doğal türler sırasıyla, iki familyadan (Leuciscidae and Gobiidae.) *Alburnoides fasciatus* ve *Neogobius fluviatilis*'tir. Bununla birlikte, diğer türler ise dört familyadan *Capoeta banarescui*, *Barbus tauricus* (Cyprinidae), *Rhodeus amarus* (Acheilognathidae), *Alburnus derjugini*, *Squalius cephalus* (Leuciscidae) ve *Ponticola turani* (Gobiidae) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Elekçi Irmağı'nda rastlanan doğal olmayan tek tür *Oncorhynchus mykiss*'di (Salmonidae).

**Anahtar kelimeler:** tatlısu balıkları, balık faunası, taksonomi, çeşitlilik

### Introduction

Knowledge of biological diversity is often a reference to wildlife conservation studies. However, since the world is under the threat of global warming, the determination of the biological heritage to be left to future generations has been the most important issue of natural scientists today. It has been reported that fishes consisted of approximately 50% of vertebrates including mammals, birds, and other tetrapods (72.327 species) [1], reach 35.704 [2]. Ichthyofauna studies in Turkey has started with sending to the UK to identify twenty-sea fish species took from Trabzon by a British explorer in the first half of the nineteenth century [3]. Today, it was reported that exists 384 species in Turkey's inland waters [4], but in another reference notified that the valid freshwater species number of Turkey has reached 401 [5]. Nowadays, this number up to 391 with some studies performed by Kaya et al. [6, 7] and Çiçek [8].

Elekçi River is one of the longest inland waters of the Ordu Province. Elekçi River continues in the southwest-northeast direction by rising from the plateaus such as Kabadüz Plateau were located 45 km south of Fatsa District Center and flows into the Black Sea by passing through the western side of Fatsa. The River forms the main riverbed when reached İslamdağ (Dağgüvezi Çatağı) locality after passing through the middle of Kumru City located 35 km southwest of the coast and uniting with Akkancık, Boyacılı, Çatılı, Karacalar, Kırkkızlar, Pınaralan, and Soğukpınar streams [9]. Looking at ichthyofaunistic studies in and around Ordu, another research was not found the other inland waters of the Ordu except for Melet River, Gaga Lake, Ilıca and Yalıköy Streams, Turnasuyu Stream, Curi Stream, Elekçi River, Gökçebayır (Tifi) Brook and Ilıca Stream [10-17]. Although there is a decrease in the amount of water due to many hydroelectric power plants, it can cause floods as it is in an important rainfall basin. In this part of the Black Sea, there is an excess of nutrients and soil transport during flood times. This has important ecological advantages and disadvantages for both the river and the Black Sea. The main branch of the river passes through many settlements and this increases the pollution load of the river. These situations may also have important effects on the fish fauna of the river. From this point of view, even if not much time has elapsed as to the previous study performed in Elekçi River, it had caused to the identification of some natural species with this study.

## 2. Materials and methods

In the study, the fish specimens were sampled from a total of six stations, determined in the coordinates on the map (Figure 1 and Table 1) of Elekçi River in 2018. All fish specimens were obtained with SAMUST<sup>TM</sup> 725MP electroshock device. Later, fish individuals were maintained in Fatsa Faculty of Marine Science (FFMS) of Ordu University (ODU) for the purpose of species identification and anesthetized with clove oil until their breathing stopped before storing in 4% formaldehyde solution. This study was conducted in accordance with ethics committee procedures of animal experiments.

Afterward, dorsal (*D*), pectoral (*P*), pelvic (*V*) and anal fin (*A*) rays (hard and soft rays) of the fish specimens were counted and lateral line (LL) scale counts were made from the anteriormost scale to the posteriormost one (at the end of the hypural plate). In taxonomic examination and evaluation of fish specimens, they were benefited lots of studies [16, 18-25]. Morphometric characters were measured by a digital caliper (Dasqua<sup>®</sup>) with 0.01 mm precision and recorded in Microsoft<sup>®</sup> Excel<sup>®</sup> according to methods informed in some studies [22, 26-31].

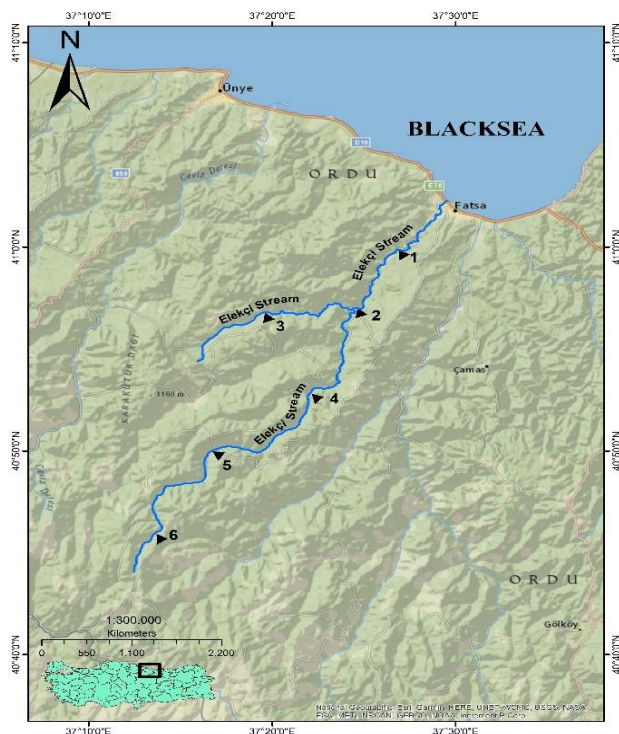


Figure 1. Fish sampling stations in the Elekçi River

## 3. Results

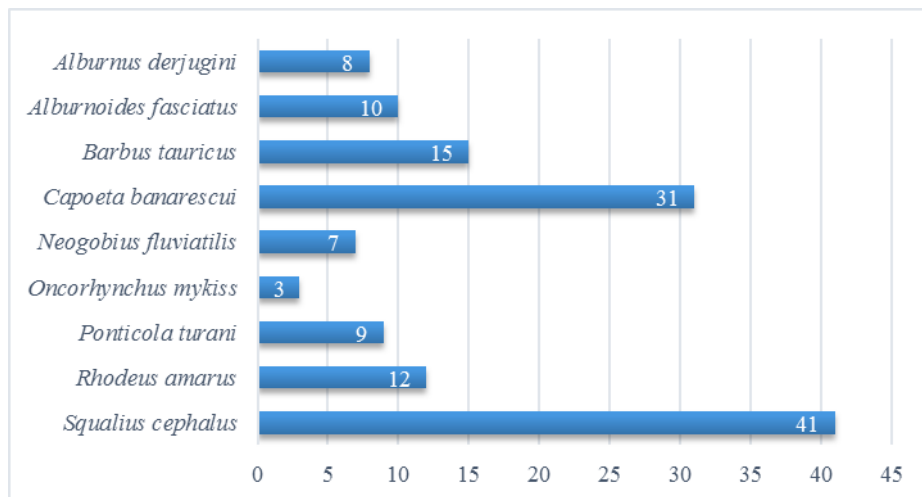
In the field study conducted on Elekçi River, it was determined that the river had a very rugged bed on the side branches except for the main tributary. While no fish was found in the main tributaries of the river, especially near the settlements, many samples were procured in small streams one of the side tributaries of the river such as the third sampling point (Hatipli). As a result of this study, 136 fish samples of 9 species were obtained from Elekçi River (Figure 2). There were presented numerical data about obtained fish species and some specifications of the stations in

Table 1: Longitudes and latitudes of stations, altitudes of stations, and specimen numbers of species by stations.

Table 1. Distribution of species obtained by stations in Elekçi River, st: station no, √: altitudes (m), n: sample number

st	coordinates	√	n	Species			sample		
				Cyprinoids	Gobioids	Salmonid			
1	40°59'52.0" N 37°26'53.0" E	55	5	<i>A. derjugini</i>	6	<i>N.</i>	-	52410-18020	
			2	<i>B. tauricus</i>		<i>fluviatilis</i>		52410-18030	
			16	<i>S. cephalus</i>				52410-18090	
			9	<i>R. amarus</i>				52410-18070	
									52410-18050
2	40°56'58.0"N 37°24'22.0"E	118	1	<i>A. fasciatus</i>	1	<i>N.</i>	-	52410-18010	
			2	<i>A. derjugini</i>		<i>fluviatilis</i>		52410-18021	
			6	<i>B. tauricus</i>				52410-18031	
			2	<i>S. cephalus</i>				52410-18091	
									52410-18051
3	40°56'49.0" N 37°19'37.0" E	143	5	<i>C.</i>	6	<i>P. turani</i>	-	52410-18040	
				<i>banarescui</i>				52410-18092	
			5	<i>S. cephalus</i>				52410-18071	
			3	<i>R. amarus</i>				52410-18060	
4	40°56'14.0"N 37°23'52.0"E	151	19	<i>C.</i>		-	3	<i>O.</i>	52410-18041
				<i>banarescui</i>				<i>mykiss</i>	52410-18032
			3	<i>B. tauricus</i>					52410-18093
			3	<i>S. cephalus</i>					52410-18100
5	40°55'14.1"N 37°23'38.8"E	281	9	<i>A. fasciatus</i>	3	<i>P. turani</i>	-	52410-18011	
			1	<i>A. derjugini</i>				52410-18022	
			15	<i>S. cephalus</i>				52410-18094	
6	40°55'13.0"N 37°22'13.0"E	210	4	<i>B. tauricus</i>		-	-	52410-18061	
			7	<i>C.</i>				52410-18033	
				<i>banarescui</i>				52410-18042	

Like previous faunistic studies in south inland waters of the Black Sea, it was found that cyprinoid species were predominant (Figure 2). However, it was observed that the number of species of cyprinoids decreased in sampling stations in the inner parts of the river. For example, only the *Capoeta* and *Barbus* species were found at station six.



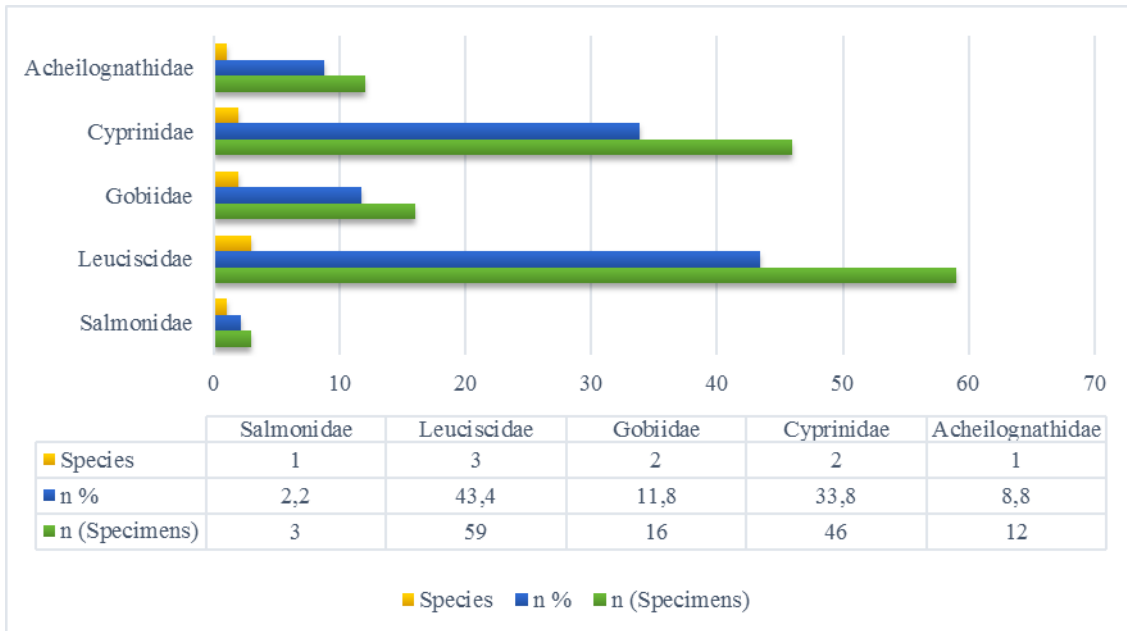


Figure 2. Percent distribution of fish species achieved from Elekçi River by species number, total sample number (n) of fish families

**Family: Cyprinidae**

***Barbus tauricus* Kessler, 1877**

(Figure 3)

**Type locality:** Crimea Peninsula, Ukraine

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18030, 2, 89.11-104.53 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 09 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18031, 6, 67.41-111.06 mm SL; Oluklu, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018. – ODUFFMS 52420-18032, 3, 69.66-90.47 mm SL; Salihli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 30 Apr 2018. – ODUFFMS 52430-18033, 4, 52.53-65.69 mm SL; Gököy, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/8-9, P: I/12-13, V: I/7-8, A: I/5, LL: 53-54.

**Distribution:** Crimea barbel restricted to seven streams of Crimea (Black and Azov Sea basins) [32].



Figure 3. *Barbus tauricus*, 111.06 mm SL, ODUFFMS 52410-18031, Oluklu, Fatsa/Ordu, Elekçi River

***Capoeta banarescui* Turan, Kottelat, Ekmekçi and İmamoğlu, 2006**

(Figure 4)

**Type locality:** Çoruh River

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18040, 5, 44.82-73.21 mm SL; Turkey: Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018. – ODUFFMS 52410-18041, 19, 73.16-127.82 mm SL; Salihli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 30 Apr 2018 – ODUFFMS 52420-18042, 7, 135.00-200.00 mm SL; Gököy, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/8, P: I/12-14, V: I/7-8, A: I/5, LL: 68-72.

**Distribution:** Banarescu barb's distributions are only accepted from northeast Turkey from the Çoruh River system, which drains through Georgia and the Black Sea [23].





Figure 4. *Capoeta banarescui*, 113.04 mm SL, ODUFFMS 52410-18041, Salihli, Fatsa/Ordu: Elekçi River

**Family: Acheilognathidae**

***Rhodeus amarus* (Bloch, 1872)**

(Figure 5)

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18070, 9, 43.31-61.70 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 09 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18071, 3, 38.62-57.27 mm SL; Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/8-9, P: I/7-8, V: I/5-6, A: I/8-9, LL: 37-39.

**Distribution:** The European bitterling distributes Basins of North, southern Baltic, Black, western and southern Caspian and Aegean Seas (from Maritza to Struma drainages); Mediterranean basin, only in northern Rhône (France) and Drin drainages (Albania, Montenegro, Macedonia). Invasive in France in southern Rhône and west of Seine, in southern Russia in Don and Kuban drainages. Introduced to Crimea, Great Britain and northern Italy. Absent in River Ural, Denmark, Scandinavia, Iberian and Apennine Peninsulas, most of Adriatic basin and Black Sea basin, south of Kuban drainage [32].



Figure 5. *Rhodeus amarus* (Bloch, 1872), 49.07 mm SL, ODUFFMS 52410-18070, Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River

**Family: Leuciscidae**

***Alburnoides fasciatus* (Nordmann, 1840)**

(Figure 6)

**Type locality:** Rivers of West Transcaucasia

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18010, 1, 66.23 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 09 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18011, 9, 66.16-83.14 mm SL; İslamdağ, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/7-8, P: I/11-12, V: I/7, A: I/12-13, LL: 42-44.

**Distribution:** The Transcaucasian Sprilin distribute from western South Caucasus to Yeşilırmak [33].





Figure 6. *Alburnoides fasciatus* (Nordmann, 1840), 83.17 mm SL, ODUFFMS 52410-18011, İslamdağ, Fatsa/Ordu: Elekçi River

***Alburnus derjugini* Berg, 1923**

(Figure 7)

**Type locality:** Çoruh River

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18020, 5, 95.91-135.49 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 09 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18021, 2, 66.00-121.00 mm SL; Oluklu, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018 – ODUFFMS 52420-18022, 1, 92.49 mm SL; İslamdağ, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/8-9, P: I/11-12, V: I/8, A: I/14-15, LL: 56-58.

**Distribution:** The Georgian shemaya distributes in eastern Black Sea tributaries, from south of the Caucasus in Russia and Georgia, to the south the Çoruh River in eastern Anatolia and to the west the Sakarya River [34].



Figure 7. *Alburnus derjugini*, 101.52 mm SL, ODUFFMS 52410-18020, Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River

***Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758)**

(Figure 8)

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18090, 16, 74.26-157.89 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 01 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18091, 2, 115.51-125.22 mm SL; Oluklu, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018 – ODUFFMS 52420-18092, 5, 50.89-67.38 mm SL; Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018 – ODUFFMS 52420-18093, 3, 74.21-124.04 mm SL; Salihli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 30 Apr 2018 – ODUFFMS 52420-18094, 15, 85.90-180.00 mm SL; İslamdağ, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: I/8-9, P: I/12-14, V: I/8, A: I/7-8, LL: 43-44.

**Distribution:** The chub ranges Sea of Azov basin (Russia, Ukraine). Landlocked population in Tsimlyansk (Reservoir Don drainage) [32].



Figure 8. *Squalius cephalus*, 120.35 mm SL, ODUFFMS 52410-18090, Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River

**Family: Gobiidae**

***Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1814)**

(Figure 9)

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18050, 6, 62.93-84.78 mm SL; Turkey: Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 09 Jan 2018. – ODUFFMS 52410-18051, 1, 101.03 mm SL; Oluklu, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: 1 VI, 2 I/15-17, P: 16-18, A: I/14-15, LL: 66-69.

**Distribution:** Pontian monkey goby generally distributes Azov and Black Sea basins. Usually close to estuaries. Invasive in river of northern Black Sea basin. Recorded in 1997 from middle Vistula (Poland), which it reached from Dniepr via navigation canal. In Danube upriver to Hungary in Dnieper up to Belarus [32].



Figure 9. *Neogobius fluviatilis*, 70.41 mm SL, ODUFFMS 52410-18050, Saraytepe, Fatsa/Ordu: Elekçi River

***Ponticola turani* Kovačić and Engin, 2008**

(Figure 10)

**Type locality:** Aksu River

**Examined material.** ODUFFMS 52410-18060, 6, 50.74-98.53 mm SL; Turkey: Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018 – ODUFFMS 52410-18061, 3, 78.52-95.92 mm SL; İslamdağ, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 16 Apr 2018.

**Meristic characters:** D: 1 V-VI, 2 I/16-17, P: 16-18, A: I/11-13, LL: 60-65.

**Distribution:** Aksu goby, is one of the endemic species of Turkey, distributes South East Black Sea inland waters.



Figure 10. *Ponticola turani*, 98.53 mm SL, ODUFFMS 52410-18060, Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River



**Family: Salmonidae*****Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)**

(Figure 11)

**Type locality:** River McCloud. Sacramento drainage, California, USA [32].**Examined material.** ODUFFMS 52410-18100, 3, 172.00-215.00 mm SL; Turkey: Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River; S. Saygun, 10 Apr 2018.**Meristic characters:** D: I/10, P: I/13, V: I/10, A: I/10, LL: 86-96.**Distribution:** The native rainbow trout distributes from Kamchatka and south to lower Amur drainage, and Pacific basin of North America, south to northern Mexico. Established in few Alpine rivers in Austria, Slovenia, Switzerland and in Serechio drainage (Italy) [32].Figure 11. *Oncorhynchus mykiss*, 198.00 mm SL, ODUFFMS 52410-18100, Hatipli, Fatsa/Ordu: Elekçi River

*Alburnoides fasciatus* (Leuciscidae), *Neogobius fluviatilis* (Gobiidae) and *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae) were first identified, except *Rhodeus amarus*, *Squalius cephalus*, *Capoeta banarecui*, *Barbus tauricus*, *Alburnus derjugini*, *Ponticola turani* (procured from this study) (Figures 3 and 4).

In the study, *S. cephalus* was found from each station except sixth in terms of sample number. *N. fluviatilis* and *P. turani* species were achieved from second and third stations only (Table 1). These gobioid species detected in Elekçi River have been the most common species after cyprinoid species. It was *S. cephalus* (30%) found to be the most abundant according to the distribution of fish species in Elekçi River. At the same time, in terms of the species number, it was determined that the most species number within six stations were the second and third stations with eight species.

#### 4. Conclusions and discussion

There was only one taxonomic study of Elekçi River. In this research conducted by Yılmaz [15] in 2012-2013, there were 7 cyprinoids and 1 gobioid in Elekçi River and only the morphometric and meristic characteristics of these species were indicated. There were respectively *Rhodeus sericeus*, *Squalius cephalus*, *Capoeta tinca*, *Capoeta sieboldii*, *Vimba vimba*, *Alburnus chalcoides*, *Barbus tauricus*. Some of the taxa determined in this study were not included in the results of Yılmaz [15] or their systematic status changed due to taxonomic revisions made later. However, only two species identified in this study, *B. tauricus* and *S. cephalus*, were defined to be morphologically similar to the results of the previous study. It was determined that three of the 9 species identified in this study, which were conducted at different times (2018) and did not use the same sampling stations as the previous research. Natural species are *A. fasciatus* and *P. turani* and unnatural was found *O. mykiss* species.

Eggs of *Oncorhynchus mykiss* were first imported in 1882 to Germany. Offspring of these first fishes were distributed throughout Europe but eggs from different origins were imported several more times from North America. Stocks with different spawning seasons were mixed, crossed and selected in order to produce trout of the same market size at all seasons. The rainbow trout cultivated in Europe is a true domesticated species, with little in common with its wild ancestors. In North America, rainbow trout may be anadromous and migrate to sea to forage (steelhead trout). In northern Europe, rainbow trout is commonly cultivated in marine and brackish waters. Steelhead trout spawning was recently observed in Norway and it is expected that the species will spread across northern Europe. In most areas, stocks of *O. mykiss* are maintained only by regular stocking of hatchery-reared fishes, but many self-sustaining populations have become established in Alpine streams of Austria, Slovenia and probably elsewhere too. This is or may become the case in other hill streams of central, northern and southern Europe (natural production is apparently not observable in many areas because it is masked by stocking) [32]. Although *O. mykiss* is not a natural species, it was found that it was adapted to the stream although it was mixed from the farms, but no offspring or mature individuals were encountered. Rainbow trout, released into many streams pond, natural and artificial lakes by producing in aquaculture facilities of public and private sector in Turkey, reportedly is located inside the world top 100 invasive species [35]. Trout is cultured although not widespread in the inland waters of Ordu and there are several rainbow trout farming facilities in the spring waters that feed Elekçi River. Therefore, three samples of rainbow trout were obtained at the fourth sampling

point close to these farms. Rainbow trout is not a natural species for Elekçi River, but they may adapt to the river rather than spring water for a short time if they're not hybrid generation releasing into the river.

Yılmaz [15] suggested that this species was *C. tinca* by due to so much resemblance to the other. In this study, determined to be *Capoeta banarescui* differentiating from *C. tinca* with some morphological features clarified by Turan et al. [23] and Bayçelebi et al. [33]. Any samples of *C. sieboldi*, one of two *Capoeta* species presented in the former study was not obtained in this study. However, *Vimba vimba* reported by Yılmaz [15] could not be found any samples from 6 stations in this research. While *Rhodeus sericeus* indicated in the previous study was not reported in the waters of our country [4, 36], this finding was confirmed by this study and it was determined that there was only *R. amarus* in Elekçi River. Species of *Alburnus chalcoides* reported in the previous study were clarified morphologically to be *Alburnus derjugini* in this study according to some criterias indicating by Bogutskaya et al. [37].

*Squalius cephalus* and *S. orientalis* are two species that are similar to each other and have been difficulty distinguished. Berg (1949) had identified *S. cephalus* from *S. orientalis* (as subspecies of *S. cephalus*) by the number of branched anal-fin rays (usually  $8^{1/2}$  in *S. cephalus* vs. usually  $9^{1/2}$  in *S. orientalis*) and body shape (body more elongate in *S. orientalis*) [24, 32]. 86% of the 41 specimens (ODUFFMS 52410-1809) obtained in this study had the specified shape which are quite elongate and have all  $8^{1/2}$  branched anal-fin rays.

*Neogobius fluviatilis* and *Ponticola turani*, which commonly found according to other studies [10-17, 38] in inland waters of the Ordu Region, were also found the less extensively in Elekçi River. The species identified as *Neogobius fluviatilis* according to Yılmaz [15] was corrected as *Ponticola turani* in this study in terms of morphological features mentioned about in the first study reported by Kovačić and Engin [29] and it has been recorded taxonomically a valid species name for this river. On the other hand, *N. fluviatilis* was detected surely in this study for the first time.

As a result, in this study, it was determined that there were two new record natural species *A. fasciatus*, and *N. fluviatilis* and a non-natural species *O. mykiss*, including *R. amarus*, *P. turani*, *A. derjugini* and *C. banarescui*, three renamed species in eight natural of nine species, belonging to five different families (Cyprinidae, Leuciscidae, Acheilognathidae, Gobiidae and Salmonidae) in Elekçi River. In other words, together with the results of the other study, it can be said that the number of species increased to minimum eleven with the addition of new record species in Elekçi River in this study. Besides, it should be considered that aim of the work when starting this study was not to refute the hypothesis of the previous study, but to evaluate the fish of this river taxonomically. Although the stations are different as to previous, in the study, had been come across different fish species, because had made a large number of sampling at different times and periods.

During the sampling period, it was observed that the river water was less than the river bed. Even in the first 15-20 km of the river, even at the sampling points (5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> stations) at higher elevations of the river than in other stations, there is a visible degree of contamination and environmental conditions threaten the habitats of the fish. This is understood by the fact that fish samples are procured from the more clear and clean side brooks that feed the river. Changes that threaten the future of flora and fauna need to be monitored and further physico-chemical studies should be conducted for all year. In addition, there may be a risk that species will be lost due to floods and overflows in this region, which receives heavy rainfall. It's thought that the lack of adequate sewerage control system and rehabilitation works carried out by official institutions along the river will endanger the fish fauna of Elekçi River. Nevertheless, *O. mykiss* considered as an invasive species must be followed and taken under control if it breeds. Finally, with a large-scale faunistic study including all streams and springs in the river basin, all natural/non-natural fish species should be determined precisely.

## Acknowledgements

This study was supported by Research Project AR-1697 by Ordu University Scientific Projects Support Coordination Department. I would like to thank Halil SULUK and Abdülkerim GÖNEZ from Fatsa Faculty of Marine Sciences for their help in the field surveys. I would also like to thank Research Assistant Enes Fatih PEHLİVAN and Senior Fisheries Engineer Filiz SAYGUN for their support for the research.

## References

- [1] IUCN - International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (2020, March 19). IUCN Red List version 2020-1: Table 1a. Retrieved <https://www.iucnredlist.org/resources/summarystatistics#Summary-%20Tables>. (Accessed 23.04.2020)
- [2] Fricke, R., Eschmeyer, W. N., & Fong, J. D. (2020, December 7). *Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references*. Retrieved <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> (accessed 17.12.2020)
- [3] Abbott, K. E. (1835). Letter accompanying a collection from Trebizond and Erzeroun. *Proceedings of the Zoological Society of London*. Part III, 89-93.
- [4] Çiçek, E., Sungur, S., & Fricke R. (2020). Freshwater lampreys and fishes of Turkey; a revised and updated annotated checklist 2020. *Zootaxa*, 4809(2), 241–270. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4809.2.2>

- [5] Froese, R., & Pauly D. (2019). List of freshwater fishes reported from Turkey. Retrieved [https://www.fishbase.se/Country/CountryChecklist.php?c\\_code=792&vhabitat=fresh&sub\\_code=](https://www.fishbase.se/Country/CountryChecklist.php?c_code=792&vhabitat=fresh&sub_code=) (accessed 29.10.2019)
- [6] Çiçek, E. (2020). *Seminacheilus dursunavsari*, a new nemacheilid species (Teleostei: Nemacheilidae) from Turkey. *Iranian Journal of Ichthyology*, 7(1), 68-77. <https://doi.org/10.22034/iji.v7i1.494>
- [7] Kaya, C., Turan, D., Bayçeşlebi, E., Kalaycı, G., & Freyhof, J. (2020a) *Oxynoemacheilus cilicicus*, a new nemacheilid loach from the Göksu River in southern Anatolia (Teleostei: Nemacheilidae). *Zootaxa*, 4808(2), 284–300. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4808.2.3>
- [8] Kaya, C., Turan, D., Kalaycı, G., Bayçeşlebi, E., & Freyhof, J. (2020b) Discovery of the westernmost known population of *Paracobitis* (Teleostei, Nemacheilidae) with the description of a new species from the Euphrates River in southern Anatolia. *Zootaxa*, 4838(4), 525–534. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4838.4.6>
- [9] Özlü, S. (2012). Elekçi Deresi (Fatsa) Havzası'nın hidrolojik sorunları ve bunların iklim şartları ile ilişkileri. *Ordu Üniversitesi Sosyal Bilimler Araştırma Dergisi*. 3(6), 282-299.
- [10] Turan, D., Taş, B., Çilek, M., & Yılmaz, Z. (2008). Fish fauna of the lower part of River Melet (Ordu, Turkey). *Journal Fisheries Sciences.com*, 2(5), 698-703. <https://doi.org/10.3153/jfscom.2008037>
- [11] Dönel, K.E. & Yılmaz, E. (2016). Gaga Gölü (Ordu-Türkiye) balık faunası ve tespit edilen 4 türün morfometrik karakterleri. *Türk Denizcilik ve Deniz Bilimleri Dergisi*. 2(2), 63-74.
- [12] Darçın, M. (2014). *Ilıca ve Yalıköy derelerinin (Ordu) balık faunasının belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Ordu Üniversitesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı, Ordu.
- [13] Bostancı, D., İskender, R., Helli, S., & Polat, P. (2015). Turnasuyu Deresi (Ordu) balık faunasının belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 1-9.
- [14] Bostancı, D., İskender, R., Helli, S., & Polat, N. (2016). The fish of the Curi stream (Ordu) and invasive fish species *Carassius gibelio* (Bloch, 1782). *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 2(1), 11-19.
- [15] Yılmaz, E. (2016). Fish Fauna of the Elekçi River (Fatsa/Ordu). *Süleyman Demirel University Journal of Science*, 11(2), 1-12.
- [16] Turan, D., Kaya, C., Bayçeşlebi, E., Bektaş, Y., & Ekmekçi, F. G. (2017a). Three new species of *Alburnoides* from the southern Black Sea basin (Teleostei: Cyprinidae). *Zootaxa*, 4242(3), 565–577. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4242.3.8>
- [17] Saygun, S., Turan, D., Saygun, F., Kabadayı, M., Yılmaz, H. F., & Ataç Şahin, T. (2017). Contributions to fish fauna of the Ilıca River (Fatsa/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 10(2), 141-154.
- [18] Miller, P.J. (1986). Gobiidae. In Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J. & Tortonese E., (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean Vol. III*. (pp. 1019-1085). UNESCO, Paris.
- [19] Bănărescu P. M. (1999). *The Freshwater Fishes of Europe Volume 5/1 (Cyprinidae 2): Part 1: Rhodeus to Capoeta*. Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [20] Bănărescu, P. M., & Paepke, H. J. (2001). *The Freshwater Fishes of Europe volume 5/III: (Cyprinidae 2/III): Carassius, Cyprinus, Gasterosteidae*. Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [21] Bănărescu, P. M., & Paepke, H. J. (2002). *The Freshwater Fishes of Europe volume 5/II: Cyprinidae 2/II: Barbus*. Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [22] Miller, P. J. (2003). *The Freshwater Fishes of Europe Volume 8, Part I: Mugilidae, Atherinidae, Atherinopsidae, Blenniidae, Odonotbutidae, Gobiidae 1*. Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [23] Turan, D., Kottelat, M., Ekmekçi, F. G., & İmamoğlu, H.O. (2006). A review of *Capoeta tinca*, with descriptions of two new species from Turkey (Teleostei: Cyprinidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 113(2), 421-436.
- [24] Özüluğ, M., & Freyhof, J. (2011). Revision of the genus *Squalius* in Western and Central Anatolia, with description of four new species (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(2), 107-148.
- [25] Turan, D., Japoshvili, B., Aksu, İ., & Bektaş, Y. (2016). Description of two new species of the genus *Gobio* (Teleostei: Cyprinidae) from the Black Sea coast of Turkey. *Zoology in the Middle East*, 62(2), 112–124.
- [26] Holčík, J. (1989). *The Freshwater Fishes of Europe Volume 1/II General Introduction to Fishes Acpenseriformes*. Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [27] Bănărescu, P. M., & Bogutskaya N. G. (2003). *Barbus* Cuvier, 1816. In Bănărescu P. M. & Bogutskaya N. G. (Eds.), *The Freshwater Fishes of Europe Volume 5/II: (Cyprinidae 2/II): Barbus*. (pp. 1-10). Wiebelsheim: Aula Verlag.
- [28] Alekseyev, S. S., Gordeeva, N. V., Matveev, A. N., Samusenok, V. P., Vokin, A. I., & Yur'ev, A. L. (2014). Three Sympatric forms of Arctic Charr *Salvelinus alpinus* Complex (Salmoniformes, Salmonidae) from Lake Kamkanda, Northern Transbaikalia. *Journal of Ichthyology*, 54(6), 384–408. <https://doi.org/10.1134/S0032945214040018>
- [29] Kovačić, M., & Engin, S. (2008). Two new species of *Neogobius* (Gobiidae) from northeastern Turkey. *Cybiu*, 32, 73–80.
- [30] Turan, D., Doğan, E., Kaya, C., & Kanyılmaz, M. (2014). *Salmo kottelati*, a new species of trout from Alakır Stream, draining to the Mediterranean in southern Anatolia, Turkey (Teleostei, Salmonidae). *ZooKeys*, 462, 135–151. <https://doi.org/10.3897/zookeys.462.8177>

- [31] Turan, D., Kottelat, M., & Kaya, C. (2017b). *Salmo munzuricus*, a new species of trout from the Euphrates River drainage, Turkey (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 28(1), 55-63.
- [32] Kottelat, M., & Freyhof, J. (2007). Handbook of European Freshwater Fishes. Cornol: Publications Kottelat.
- [33] Bayçelebi, E., Turan, D., & Japoshvili, B. (2015). Fish fauna of Çoruh River and two first record for Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15, 783-794. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15\\_4\\_01](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_4_01).
- [34] Freyhof, J. (2014). *Alburnus derjugini*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014, e.T19018463A19222773. 2014. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T19018463A19222773.en>.
- [35] Ekmekçi, F.G., Kırankaya, Ş.G., Gençoğlu, L., & Yoğurtçuoğlu, B. (2013). Present status of invasive fishes in inland waters of Turkey and assessment of the effects of invasion. *Istanbul University Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 28, 105-140.
- [36] Bektaş, Y., Beldüz, A. O., & Turan D. (2013). The phylogenetic position of Turkish populations within the European Bitterling, *Rhodeus amarus* (Osteichthyes: Cyprinidae). *Zoology in the Middle East*, 59(1), 39-50. <https://doi.org/10.1080/09397140.2013.795063>
- [37] Bogutskaya, N. G., Küçük, F., & Ünlü, E. (2000). *Alburnus baliki*, a new species of cyprinid fish from the Manavgat River system, Turkey. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 11(1), 55-64.
- [38] Aksu, S., Turan, D., & Emiroğlu, Ö. (2020). Current status freshwater fishes of Nilüfer Stream (North-western Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 13(3), 351-360. <https://doi.org/10.46309/biodicon.2020.836206>



## Seed-Coat microsculpturing of some *Cardamine* (Brassicaceae) taxa and its systematic importance

Emrah ŞİRİN<sup>\*1</sup>, Kuddisi ERTUĞRUL<sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0003-3408; 0000-0002-6463-2918

<sup>1</sup> Faculty of Science, Selçuk University, 42031 Konya, Turkey

### Abstract

The seed exomorphic characteristics of four taxa (*Cardamine graeca*, *C. impatiens* subsp. *impatiens*, *C. raphanifolia* and *C. uliginosa*) belonging to *Cardamine* were investigated with scanning electron microscopy (SEM). This study presents exomorphic characteristics, including seed colour, shape, winged, measures, seed coat pattern. Four coat patterns were observed; regularly reticulate, irregularly-reticulate, blister and tuberculate-reticulate, and two shapes were distinguished; broadly oblong and oblong. The results showed that the morphological characteristics of seed could contribute as criteria to distinguish taxa. This is the first study in which the seed surface of any *Cardamine* taxa growing in Turkey is studied with SEM.

**Key words:** classification, Cruciferae, micromorphology, seed surface ornamentation, SEM, taxonomy

----- \* -----

### Bazı *Cardamine* (Brassicaceae) taksonlarının tohum yüzey mikro şekilleri ve taksonomik önemi

### Özet

*Cardamine* cinsine ait olan dört taksonun (*Cardamine graeca*, *C. impatiens* subsp. *impatiens*, *C. raphanifolia* and *C. uliginosa*) tohum dış morfolojileri, taramalı electron mikroskobu (SEM) ile incelendi. Bu çalışma tohum rengi, şekli, kanatı, ölçüsü ve tohum yüzey modelini içeren dış morfolojik karakterleri sunmaktadır. Dört tohum yüzeyi modeli; düzenli-retikulat, düzensiz-retikulat, kabarcıklı ve tüberküllü-retikulat gözlemlendi ve iki tane de tohum şekli; geniş oblong ve oblong tespit edildi. Sonuçlar tohumların morfolojik karakterlerinin taksonların ayırımına katkı sağlayabileceğini göstermiştir. Bu çalışma Türkiye’de yetişen herhangi bir *Cardamine* taksonunun tohum yüzeyinin SEM ile incelendiği ilk çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** sınıflandırma, Cruciferae, mikromorfoloji, SEM, taksonomi, tohum yüzeyi modellemesi

### 1. Introduction

Turkey is one of the richest countries in the world in terms of *Brassicaceae* with 571 species. At the first volume of the Flora of Turkey, the number of *Brassicaceae* genus and species was indicated to be 86 and 464, respectively [1]. These numbers have increased to 88 genus and 526 species in the 10th volume [2] and to 91 genus and 555 species in the 11th volume of Flora of Turkey [3]. In the 2nd supplement of Flora of Turkey, the total number of the species increased to 538 with the addition of one genus, 28 species, 15 subspecies, and two varieties [4].

*Cardamine* L. is the third largest genera of *Brassicaceae* family with approximately 200 species spreading all over the world except Antarctica [5, 6]. Taxonomic revision studies have been carried out on *Cardamine* species in different parts of the world [7, 8, 9]. In Turkey *Cardamine* has represented with 14 taxa and none of them is not endemic [10]. All studied taxa, except *C. raphanifolia* (Euro-Siberian element), are widely distributed [1].

Seed surfaces, color, and size are valuable characteristics for distinguishing taxa in *Brassicaceae* [11, 12, 13, 14]. The four taxa studied were closely positioned in the identification key of Flora of Turkey [1]. Therefore the main

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903322231881; Fax.: +903322231881; E-mail: emrahsirin@selcuk.edu.tr



objective of this study is to evaluate the taxonomic significance of the seed coat pattern as seen by SEM in some taxa of the *Cardamine* and to contribute to the distinction of species.

## 2. Materials and methods

The study material comprised samples of ripe seeds from four taxa belonging to *Cardamine* collected from natural habitats in Turkey between 2015 and 2016. The samples were stored at Konya Selçuk University Faculty of Science Herbarium (KNYA). The locations and collector registration numbers of the taxa studied are provided in Table 1; the seed micromorphology characteristics are provided in Table 2. Twenty seeds from each taxon were examined in our study.

Samples examined in our analyses using scanning electron microscopy (SEM) were first passed through a series of 70, 80, 96, and 100% alcohol for 20 min each. The surfaces were then observed and photographed with the ZEISS EVO LS-10 scanning electron microscope at 30x, 1000x, and 2000x magnification in high vacuum mode.

The seed micromorphology terminology used was according to [13, 15, 16].

Table 1. Localities of the studied taxa

TAXA	LOCALITY
<i>Cardamine graeca</i> L.	C4 Karaman: Sariveliler, Çukurbağ Köyü, kurumuş dere kenarı, 800 m, 30.06.2015, E. Şirin 573 & M. Şirin (KNYA)
<i>C. impatiens</i> L. subsp. <i>impatiens</i>	A3 Bolu: Yedigöller Milli Parkı, <i>Fagus orientalis</i> ormanı, 1500 m, 04.05.2016, E. Şirin 615 & M. Şirin (KNYA)
<i>C. raphanifolia</i> Pourr.	A8 Erzurum: Aziziye, Ahırcık Yaylası, dere kenarı, 2400 m, 13.08.2015, E. Şirin 538 & M. Şirin (KNYA)
<i>C. uliginosa</i> M. Bieb.	A9 Ardahan: Damal'dan Posof'a 20. km, çayırık alan, 2450 m, 10.06.2016, E. Şirin 639 & M. Şirin (KNYA)

## 3. Results

The micrographs from the seeds of the four taxa studied are shown in Fig. 1 and the macro- and micromorphological properties of the seeds are provided in Table 2.

*C. graeca*: Seed dark brown to black, oblong, winged, glabrous, 4.61–4.82 x 1.91–2.42 mm and the seed coat pattern is regularly reticulate (Table 2, Fig. 1).

*C. impatiens*: Seed brown, broadly oblong, wingless, glabrous, 1.11–1.02 x 0.71–0.83 mm and the seed coat pattern is irregularly reticulate (Table 2, Fig. 1).

*C. raphanifolia*: Seed brown, oblong, wingless, glabrous, 0.82–1.12 x 0.42–0.71 mm and the seed coat pattern is blister (Table 2, Fig. 1).

*C. uliginosa*: Seed dark brown to black, broadly oblong, winged, glabrous, 4.52–4.92 x 2.06–3.28 mm and the seed coat pattern is tuberculate reticulate (Table 2, Fig. 1).

## 4. Conclusions and discussion

Seed surface patterns provide valuable characters for the identification of taxa in selected groups of Brassicaceae [11, 12, 13, 17]. In the previous study, seed surface patterns of the *C. graeca* and *C. impatiens* were evaluated as smooth [11, Table 3]. However, it would be more appropriate to evaluate *C. graeca* as regularly reticulate and *C. impatiens* as irregularly reticulate since the evaluation was not made using a SEM. Other seed surface patterns have been defined on *Cardamine flexuosa* (undulate) and *C. hirsuta* (microreticulate) [16]. Blister, which is the surface model of *C. raphanifolia*, was also observed in *Brassica nigra* and *B. oleracea*, which are not related to *Cardamine* [17].

In this study, a broadly oblong shape was observed in most of the seeds. A similar result was found in *Matthiola tricuspidata*, which is not related to *Cardamine* [19]. Although [11] interpreted the seed shapes of *C. graeca* as orbicular to oval and of *C. impatiens* as oval, according to Stearn's [15] system, it is more appropriate to interpret the seed shapes of *C. graeca* as oblong and *C. impatiens* as broadly oblong.

*C. impatiens* and *C. raphanifolia* differed from the others with wingless seed. Because all of the studied taxa had wingless seed, this character cannot be considered distinctive. *Bunias erucago*, *Euclidium syriacum*, *Hymenophysa pubescens* and *Neslia paniculata* are some other species in the same family with wingless seed structures [11]. *C. raphanifolia* had relatively smaller seeds compared to the others.

Because all of the studied taxa had dark brown to black seed color, this cannot be considered as a distinctive character. [20] observed a similar seed color in *Lepidium* taxa, which are not related with the *Cardamine*.

All of the taxa had a glabrous seed surface. [21] reported a similar situation in *Brassica juncea*, *B. tournefortii*, *Eruca sativa*, *Raphanus sativus*, *Cakile arabica*, and *Sisymbrium irio*, which are not related to *Cardamine*.

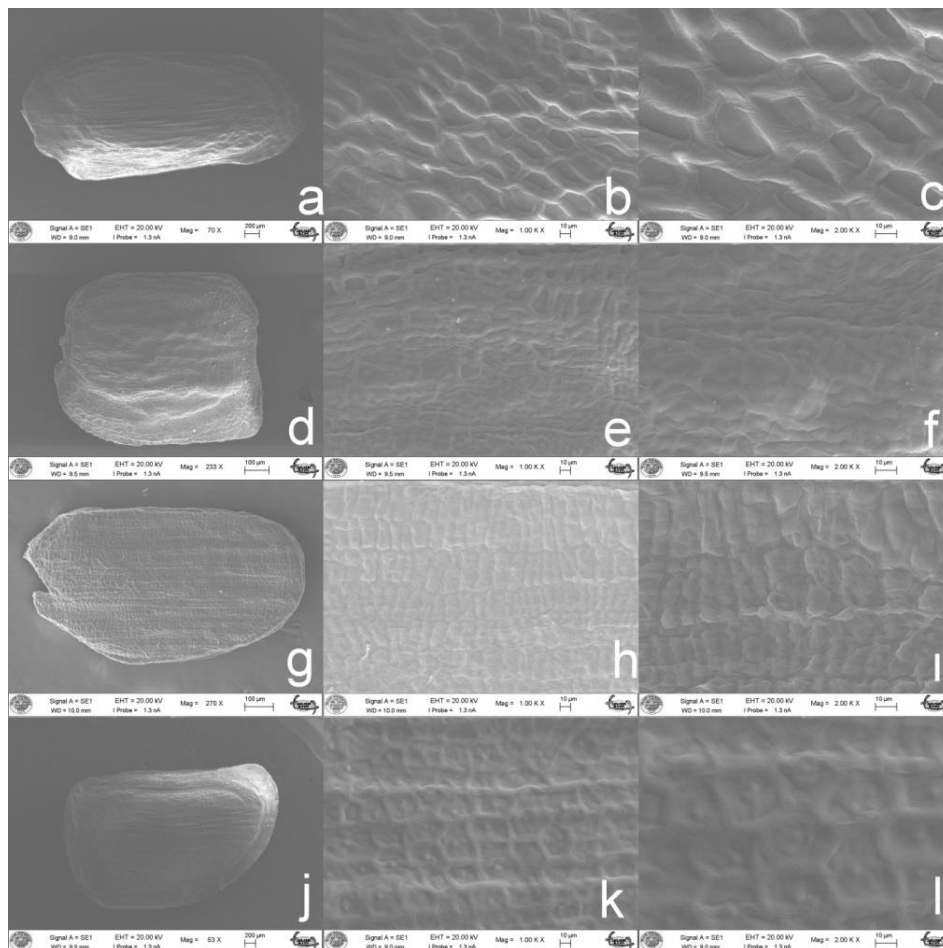


Figure 1. SEM micrographs of seeds of studied taxa: *C. graeca* (a–c), *C. impatiens* (d–f), *C. raphanifolia* (g–i) and *C. uliginosa* (j–l)

The studied characteristics were not distinctive for *Cardamine* in genus level but especially seed coat ornamentation can be used as distinctive characteristics among the studied taxa. In future seed morphology studies about the rest of the *Cardamine* species will contribute to the interpretation of relationships of the taxa.

Table 2. Micro- and macromorphological seed features of studied taxa

Taxa	Colour	Shape	Length (Mm)	Width (Mm)	Ornamentation
<i>Cardamine graeca</i>	Dark brown to black	Oblong	4.61–4.82	1.91–2.42	Regularly reticulate
<i>C. impatiens</i>	Brown	Broadly oblong	1.11–1.02	0.71–0.83	Irregularly reticulate
<i>C. raphanifolia</i>	Brown	Oblong	0.82–1.12	0.42–0.71	Blister
<i>C. uliginosa</i>	Dark brown to black	Broadly oblong	4.52–4.92	2.06–3.28	Tuberculate reticulate

Table 3. Comparison with previous studies

Studied Taxa	Results	Results Of Previous Studies
<i>Cardamine graeca</i>	Regularly reticulate	Smooth [11]
<i>C. impatiens</i>	Irregularly reticulate	Smooth [11]
<i>C. graeca</i>	Oblong	Orbicular to oval [11]
<i>C. impatiens</i>	Broadly oblong	Oval [11]

## Acknowledgements

The specimens were collected during the field trips for a project supported by a grant from Scientific Investigation Project Coordinator of Selçuk University (Project No: 15101001).

## References

- [1] Davis, P.H. (1965). Cruciferae. In: Davis P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Island*. Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 1, 248–495
- [2] Davis, P.H., Mill, R.R. & Tan, K. (1988). Cruciferae. In: Davis P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Island (supplement)*. Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 10, 29–58, 232–235.
- [3] Güner, A., Ozhatay, N., Ekim, T. & Bafler K.H.C. (2000). Cruciferae. In: Davis P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Island*. Edinburgh University Press, Edinburgh, Supplement 2, Vol. 11, 29–41.
- [4] Al-Shehbaz, I.A., Mutlu, B. & Dönmez, A.A. (2007). The Brassicaceae (Cruciferae) of Turkey, updated. *Turkish Journal of Botany*, 31(4), 327–336.
- [5] Al-Shehbaz, I.A. (2015). *Cardamine hongdeyuana* (Brassicaceae), a new species from Xizang, China. *Kew bulletin*, 70(1), 3.
- [6] Al-Shehbaz, I.A. (2012). A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61, 931–954.
- [7] Khatri, K. S. (1990). *Cardamine* L. sect. *Macrophyllum* Schulz, O.E. (Cruciferae Juss.) in the Asian Territory of the Soviet Union, A morphological, anatomical and phylogenetical study with taxonomic revision. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 25(2), 197–215.
- [8] Franzke, A., Pollmann, K., Bleeker, W., Kohrt, R., & Hurka, H. (1998). Molecular systematics of *Cardamine* and allied genera (Brassicaceae): Its and non-coding chloroplast DNA. *Folia Geobotanica*, 33(3), 225–240.
- [9] Heenan, P. B. (2017). A taxonomic revision of *Cardamine* L. (Brassicaceae) in New Zealand. *Phytotaxa*, 330(1), 1–154.
- [10] Mutlu, B. (2012). *Cardamine* L. In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (editors). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul, Turkey: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği, pp. 264–266 (in Turkish).
- [11] Vaughan, J.G. & Whitehouse, J.M. (1971). Seed structure and the taxonomy of the Cruciferae. *Botanical Journal of Linnean Society*, 64, 383–409.
- [12] Barthlott, W. (1981). Epidermal and seed surface applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany*, 1, 345–355. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1981.tb00704.x>
- [13] Koul, K., Ranjna, N. & Raina, S.N. (2000). Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae. *Annals of Botany*, 86, 85–97. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1197>
- [14] Karaismailoğlu, M.C. (2019). *The Value of the Seed in the Systematic of the Family Brassicaceae*. In: Research Reviews in Science and Mathematics–Summer, Editor: Sağlık HA Gece Kitaplığı Yayınevi, New York, Ankara, pp. 51–80
- [15] Stearn, W.T. (1992). *Botanical Latin*. David & Charles Pub, London.
- [16] Kasem, W.T., Ghareeb, A. & Marwa, E. (2011). Seed Morphology and Seed Coat Sculpturing of 32 Taxa of Family Brassicaceae. *Journal of American Science*, 7(2), 166–178.
- [17] Zeng, C.L., Wang, J.B., Liu, A.H. & Wu, X.M. (2004). Seed coat microsculpturing changes during seed development in diploid and amphiploid *Brassica* Species. *Annals of Botany*, 93, 555–566. <https://doi.org/10.1093/aob/mch080>
- [18] Murley, M.R. (1951). Seeds of the Cruciferae of northeastern North America. *The American Midland Naturalist*, 46, 1–81.
- [19] Kaya, A., Ünal, M., Sefali, A., & Martin, E. (2019). Fruit and seed macro-and micromorphologies of the genus *Matthiola* (Brassicaceae) in Turkey and their taxonomic value. *Turkish Journal of Botany*, 43(4), 516–528.
- [20] Bona, M. (2013). Seed-coat microsculpturing of Turkish *Lepidium* (Brassicaceae) and its systematic application. *Turkish Journal of Botany*, 37, 662–668.
- [21] Gabr, D.G. (2018). Significance of fruit and seed coat morphology in taxonomy and identification for some species of Brassicaceae. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 380–402.



## Determination of the effect of different drying times on yield and essential oil content of Hyssop (*Hyssopus officinalis*) Plant

Nimet KATAR<sup>\*1</sup>, Duran KATAR<sup>2</sup>, Emel YILDIZ<sup>3</sup>  
ORCID: 0000-0003-0699-167X; 0000-0003-1340-8040; 0000-0001-7190-593X

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 26160 Eskişehir, Turkey

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 26160 Eskişehir, Turkey

<sup>3</sup>Orman Bölge Müdürlüğü 26160 Eskişehir, Turkey

### Abstract

The aim of this research was to determine the effect of different drying times on the yield and essential oil content of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). The harvested fresh plant samples were dried at 35°C in the drying oven at different times (fresh herb, 24, 48 and 72 hours). Then, the essential oil content of the plant samples were determined by water distillation using the Clevenger type apparatus. In the experiment carried out, the mean values of herb yield (kg da<sup>-1</sup>), leaf + flowers yield (kg da<sup>-1</sup>), essential oil ratio (%), essential oil yield were determined as 1209.81 kg da<sup>-1</sup>, 487.06 kg da<sup>-1</sup>, 0.50% and 2.17 L da<sup>-1</sup>, respectively. Results showed that different drying times were effective on yield and essential oil content of hyssop.

**Keywords:** hyssop (*Hyssopus officinalis*), different drying times, yield and essential oil content

----- \* -----

### Farklı kurutma sürelerinin Zufa/Çördük Otu (*Hyssopus officinalis*) bitkisinin verim ve uçucu yağ oranı üzerine etkisinin belirlenmesi

### Özet

Bu araştırmanın amacı farklı kurutma sürelerinin zufa/çördük otu (*Hyssopus officinalis* L.) bitkisinin verim ve uçucu yağ oranı üzerine etkisinin belirlenmesidir. Hasat edilen taze bitki örnekleri farklı sürelerle (taze herba, 24, 48 ve 72 saat) kurutma fırınında 35°C kurutulmuştur. Daha sonra, bitki örneklerinin uçucu yağ oranları Clevenger tipi cihaz kullanılarak su distilasyonu yöntemiyle belirlenmiştir. Yürütülen çalışmada, ortalama herba verimi (kg da<sup>-1</sup>), yaprak + çiçek verimi (kg da<sup>-1</sup>), uçucu yağ oranı (%) ve uçucu yağ verimi (L da<sup>-1</sup>) değerleri sırasıyla 1209.81 kg da<sup>-1</sup>, 487.06 kg da<sup>-1</sup>, % 0.50 ve 2.17 L da<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar; zufa bitkisinde farklı kurutma sürelerinin verim ve uçucu yağ oranı üzerinde etkili olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** zufa otu (*Hyssopus officinalis*), farklı kurutma süreleri, verim ve uçucu yağ oranı

### 1. Giriş

Lamiaceae familyasına ait olan *Hyssopus* L. cinsinin dünyada 12 türü teşhis edilmiş olup, bu türlere ait bitkiler; yarı odunsu, çok yıllık aromatik bitkilerdir [1, 2, 3]. Bu türler, Batı ve Orta Avrupa'da, Akdeniz havzasında, Hazar denizinden Karadenize kadar olan bölgede ve Asya kıtasında doğal yayılış göstermektedir [3, 4, 5, 6]. Bitkinin yoğun şekilde kültürü ise; Rusya, Fransa, İtalya ve İspanya'da yapılmaktadır [7]. Türkiye'de "zufa otu, zulfa otu, çördük ve

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905416767386; Fax.: +902223242990; E-mail: nimetkatar@gmail.com

cürdük otu” olarak bilinen bitkinin ülkemizde tek türü (*Hyssopus officinalis* L.) bulunmakta olup, Türkiye’nin güney bölgelerinde ve kuzey-doğu bölgelerinde yayılış göstermektedir [3, 8].

Dikotil olan çördük otu bitkisi; kuvvetli bir kazık köke sahiptir [9, 10]. Dip kısmı yarı odunsu ve çokça dallanan bitkinin boyu 100 cm’e kadar ulaşabilmektedir [3, 9, 10, 11]. Fakat kültürü yapılan çördük otu bitkilerinde bitki boyu 30-60 cm arasında değişmektedir [9, 12]. Çördük otu bitkisinin ortalama habitus çapı ise 37.1 cm’dir [13]. Sapların odunsu kısmı üzerinde yaprakları dökülmüş mat kahverengi kabuk bulunmaktadır. Bitkinin sapı üzerinde genellikle sapsız şekilde (bazen saplı) karşılıklı olarak oturmuş olan esas yapraklar lanzet (mızrağımsı) şeklindedir. Lanzet yaprakların uzunluğu 2.0-3.5 cm ve genişliği ise 0.5-1.0 cm arasında değişmektedir. Yaprakların kenarları düz olup, ucu yuvarlak veya hafifçe sivridir. Lanzet yapraklar ince ve uzun olduğu için bükülmüş durumdadır. Çördük otu kserofit bir bitki olup, yeşil renkli yaprakların her iki yüzünde de kserofitliğin gereği olarak tüyler bulunmaktadır [1, 14]. Çiçekler; bitki saplarının 20-30 cm’lik uç kısmında seyrek başak şeklinde bulunmaktadır. Bitki hermafrodit çiçek yapısına sahip olup, 5 adet ucu sivri, boru şeklinde çanak yaprak ve yine boru şeklinde 5 parçalı taç yapraklara sahiptir. Taç yapraklar genellikle parlak viole-mavi renkli olmakla birlikte nadiren de olsa pembe veya beyaz renkli de olabilmektedir. Boru şeklindeki taç yaprakların içinde ise 4 adet erkek ve dişi organ bulunmaktadır [9, 14]. Bölgelere göre değişmekle birlikte bitkide çiçeklenme Temmuz-Eylül ayları arasında gerçekleşmektedir. Bitkide yabancı dölleme hakim olup, tozlanma arılar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Çördük otu bitkisi Ağustos-Ekim ayları arasında ise tohumlarını olgunlaşmaktadır. Bitki döllemeden sonra 2.5 mm kadar uzunlukta ve 1.2 mm kadar genişlikte olan cevzicik şeklindeki meyveleri oluşturmaktadır. Bitkinin 1000 tohum ağırlığı 1.0-1.5 g arasında değişmektedir [14].

Çördük otunun kuru çiçekli dalları/yaprakları halk hekimliğinde ve herbal çay harmanlarında soğuk algınlığı, sindirim rahatsızlıklarında, boğaz iltihabının tedavisinde, balgam söktürücü, yara iyileştirici, nezle tedavisinde, iltihap kurutucu, kan trombositlerini aktive edici, kulunç giderici ve öksürük kesici olarak kullanılmaktadır. Çiçekli dal/yapraklarından elde edilen uçucu yağlar ise gıda, içecek (alkollü/alkolsuz), eczacılık, deterjan ve kozmetik endüstrisinde farklı şekillerde kullanılmaktadır [2, 5, 15]. Bitki diğer taraftan yüksek kan şekerinin düşürülmesinde, bağırsaklarda karbonhidrat emiliminin azaltılmasında ve sinirsel hastalıkların tedavisinde de etkin olarak kullanılmaktadır [2, 4, 6].

Bitkinin yaprak ve çiçeklerinden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlar antifungal [4], antibakteriyel [6] antimikrobiyal [16], antioksidan [6, 17], antiseptik [10] ve antispazmolitik [10] etkilere sahip olmanın yanı sıra antivirütik etkiye de sahip olup, HIV hastalarının immun sisteminin güçlendirilmesinde de kullanılmaktadır [1]. Bunun yanı sıra çördük otu viral hastalıklardan üşütme, boğaz ağrısı, öksürük, astım, bronşit gibi hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır [6, 10]. Üşütmeden kaynaklanan üst solunum yolları enfeksiyonlarının tedavisinde de faydalanılan önemli bir bitkidir [14].

Bitkinin kurutulmuş veya taze yaprakları mutfaklarda çorba, salata ve özellikle et yemeklerine lezzet ve aroma katmak için kullanılmaktadır [18]. Bitki aynı zamanda önemli bir arı otu özelliğine sahip olup, bal mera ve ormanları için büyük bir öneme sahiptir. Nektar verimi yüksek olup, 1 ha’lık çördük otu plantasyonundan 70-80 kg bal üretilebilmektedir [1]. Çördük otu, veteriner hekimlikte hayvanların sindirim sistemi bozukluklarının tedavisinde faydalanılan önemli bir tıbbi aromatik bitkidir [4].

Bitkinin yaprakları, çiçekleri ve sapları; uçucu yağ, flavonoidler, tanenler ve marrubin içermektedir. Önemli biyoaktif maddelerden olan uçucu yağ çördük otunun yaprak ve yaprak+çiçekte daha yüksek oranda bulunurken, saplarda ise uçucu yağ içeriği düşüktür [18]. Uçucu yağ oranı ise üretim materyali olan bitkinin genotipi, üretimin yapıldığı bölgenin iklim ve toprak koşulları ve yetiştiricilik uygulamalarına bağlı olarak % 0.75-1.50 arasında değişmektedir [13, 14, 19, 20, 21]. Zufa otu bitkisinin uçucu yağını oluşturan bileşenleri belirlemek üzere birçok çalışma yürütülmüş ve cis-pinocamphone (% 25.67-57.27), trans-pinocamphone (% 15.31-33.08), β-pinene (% 7.23-39.6), pinocarvone (% 5.34-27.10), n-decane (% 8.63-11.76), germacrene D (% 3.23-4.65) ve elemol (% 1.81-8.99)’un ana bileşenler olduğu bildirilmiştir [3, 4, 7, 11].

Tıbbi aromatik bitkilerde sekonder metabolitlerin biyosentezi, genetik olarak kontrol edilmesine rağmen, çevresel faktörlerden de güçlü bir şekilde etkilenmektedir [20, 21]. Bu bitkilerdeki sekonder metabolitlerin oranı ve kompozisyonu üzerine kurutma ve ekstraksiyon yönteminin, sıcaklığının ve süresinin ve depolama koşullarının etkisi üzerine birçok çalışma yürütülmüştür [22, 23, 24, 25]. Bu çalışmalar kurutma esnasında uçucu yağ oranında meydana gelen değişimlerin kurutma sıcaklığına, süresine ve kurutma havasının nispi nemine bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Tıbbi aromatik bitkilerin taze herba ve yapraklarında su oranı % 70-80 düzeyindedir. Bu materyallerin uygun şekilde korunması ve depolanabilmesi için su oranının % 10’unun altına indirilmesi büyük öneme sahiptir [26]. Bu nedenle taze herba ve yaprakların hasadından sonra uygun bir metod, sıcaklık ve süreyle kurutulması önemlidir. Değişen kurutma yöntemi ve sürelerinin uçucu yağın oranı ve bileşenlerinin hangilerinde ve ne miktarda değişimlere neden olacağı bitkiye ve uçucu yağın kompozisyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir [26]. Bu nedenle bitkilerde ayrı ayrı yürütülecek çalışmalarla bu değişimin belirlenmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Zufa otu bitkisinde farklı kurutma yöntemlerinin uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkisi üzerindeki etkisi yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [8]. Zufa otu bitkisinde kurutma sürelerinin uçucu yağın verim ve kalitesi üzerindeki etkisine dair yapılmış herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanamamıştır.

Bu çalışmanın amacı, farklı kurutma sürelerinin Eskişehir ekolojik koşullarında yetiştirilen zufa otu bitkisinin kuru herba, uçucu yağ oranı ve uçucu yağ verimi üzerine olan etkisini belirlemektir.

## 2. Materyal ve yöntem

Araştırmada kullanılan çördük/zufa otu (*Hyssopus officinalis* L.) bitkisinin tohumları Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi'nden temin edilmiştir. Buradan temin edilen populasyon özelliği taşıyan tohumlardan fide üretimleri 2016 yılında serada yapılmıştır. Bu amaçla seradaki fideliklere Mart ayının 3. haftasında tohum ekimi yapılmıştır. Serada Nisan ayının son haftasında dikim olgunluğuna ulaşan fideler daha önceden hazırlanmış olan Eskişehir Orman Fidanlığındaki parsellere 50 x 40 cm sıklıkta dikimleri yapılmıştır [9, 13].

Denemenin yürütüldüğü Eskişehir İlinin 2018 yılına ait iklim verileri Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmanın yürütüldüğü yıl olan 2018 yılında alınan toplam yıllık yağış miktarı 411.80 mm olarak ölçülmüştür. Uzun yılların ortalama değerine kıyasla (338.8 mm) daha yüksektir. Toplam yağışın aylara dağılımı bölgenin beklenen dağılımından farklılık göstermiş olup, haziran, temmuz ve ağustos aylarında bölgeden 60.6, 42.0 ve 19.3 mm yağış alınmıştır. 2018 yılı ortalama yıllık sıcaklık değeri 12.5 °C uzun yıllar ortalama sıcaklık değerine (10.7°C) göre biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Beklendiği gibi yılın en yüksek ortalama sıcaklığına sahip ayları Temmuz (21.9 °C) ve Ağustos (22.7 °C) aylarıdır.

Tablo 1. Deneme yerine ait iklim verileri\* (2018)

Aylar	İklim Faktörleri			
	Toplam Yağış (mm)*		Ortalama Sıcaklık (°C)	
	Yıllar		Yıllar	
	2018	1970-2011 (Uzun Yıllar)	2018	1970-2011 (Uzun Yıllar)
Ocak	30.00	30.60	1.40	-0.20
Şubat	28.80	26.10	5.60	0.90
Mart	49.80	27.60	8.90	4.90
Nisan	16.80	43.10	13.60	9.60
Mayıs	72.00	40.00	16.40	14.90
Haziran	60.60	23.70	19.30	19.10
Temmuz	42.00	13.10	21.90	22.10
Ağustos	19.30	9.20	22.70	21.80
Eylül	3.80	18.10	18.30	16.70
Ekim	30.10	32.80	13.00	11.70
Kasım	18.60	34.00	7.40	5.60
Aralık	40.00	40.50	1.70	1.70
<b>Toplam/Ortalama</b>	<b>411.80</b>	<b>338.80</b>	<b>12.50</b>	<b>10.70</b>

\* Veriler Eskişehir Meteoroloji 3. Bölge Müdürlüğü'nden alınmıştır.

Deneme tarlasından alınan (60 cm derinlikten) toprak örneklerinin analizi Toprak ve Ekoloji Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü laboratuvarında yapılmıştır. Deneme alanına ait toprağın kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 2'de verilmiştir. Toprak, killi-tınlı yapıda olup, hafif alkali özellik göstermektedir. Organik madde içeriği (%1.73) bakımından ise fakir durumdadır.

Tablo 2. Denemenin yürütüldüğü alandan alınan toprak analiz verileri\* (2018)

Fiziksel Analiz				
Derinlik (cm)	Toprak Tekstürü	Kum (%)	Tuz (%)	Kil (%)
0-60	Killi Tınlı	41.83	22.25	35.91
Kimyasal Analiz				
pH	Kireç (%)	Organik Madde (%)	Toplam Azot (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm)
7.60	8.46	1.73	0.13	36.00

\*Analiz Orman, Toprak ve Ekoloji Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü laboratuvarında yapılmıştır.

Tarla denemesi tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur [27, 28]. Deneme alanı her blokta 4 parsel olacak şekilde tasarlanmış ve 16 parselden oluşmuştur. Her parselde ise 4 sıra bitki bulunmaktadır. Sıralar ise 4 m uzunlukta olup her sırada 10 bitki bulunmaktadır. Deneme parsellerine damlama sulama tesisi kurulmuş ve ihtiyaç durumu dikkate alınarak sulama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Deneme parsellerinde görülen yabancı otlarla gerekli mücadele mekanik yöntemlerle yapılmıştır [9, 13]. 2016 yılı plantasyonun kuruluş yılı olup bitkiler sonbahara kadar gerekli bakımlar yapılarak gelişmeye bırakılmış ve Kasım ayının ilk yarısında bitkiler 10-15 cm yükseklikten biçilerek kışa terk edilmiştir [4, 9, 12]. Çalışmanın konusu olan (taze bitki örnekleri, 24 saat, 48 saat ve 72 saat süreyle kurutulmuş yaprak + çiçek örnekleri) bitki örnekleri bu plantasyonun 3. yılı olan 2018 yılında yapılan hasattan elde edilmiştir. Hasat, tam çiçeklenme döneminde kenar tesiri olarak parsel kenarlarından birer sıra ve sıra uçlarından da birer bitki bırakıldıktan sonra kalan bitkiler 10 cm yükseklikten biçilerek yapılmıştır [4, 14]. Her parselden biçilen taze

herbalar tartılarak taze herba verimleri ve sapsarı ayrıldıktan sonra da taze yaprak+çiçek verimleri hesaplanırken, elde edilen taze herba ve taze yaprak+çiçek örnekleri 35 °C'lik etüvde farklı sürelerle (24 saat süreyle kurutma, 48 saat süreyle kurutma ve 72 saat süreyle kurutma) kurutulmuş kuru herba ve kuru yaprak+çiçek verimleri hesaplanmıştır.

Çalışmadan elde edilen taze herba, taze yaprak+çiçek örnekleri ile farklı sürelerle etüvde kurutulmuş olan kuru yaprak+çiçek örneklerinin uçucu yağ oranları su distilasyonu yöntemiyle 3 saat süre ile Clevenger cihazı yardımıyla ekstrakte edilmiş ve yüzde (mL 100 g<sup>-1</sup>) olarak belirlenmiştir. Belirlenmiş olan uçucu yağ oranları üzerinden de taze herbada, taze yaprak + çiçekte ve farklı sürelerle kurutulmuş yaprak + çiçeklere ait uçucu yağ verimleri hesaplanmıştır.

Çalışmadan elde edilen veriler TARIST paket programı kullanılarak, tesadüf blokları deneme desenine göre varyans analizine tabi tutulmuş ve incelenen özelliklerin önemlilik düzeyleri belirlenmiştir. Önemli çıkan uygulamalar arasındaki farklılıklar hesaplanan LSD değerine göre gruplandırılmıştır [27].

### 3. Bulgular

Tıbbi aromatik bitkilerin verim ve kalitelerinin belirlenmesinde başta üretimde kullanılan bitki materyalinin genotipik özellikleri olmak üzere birçok ekolojik faktörler ve yetiştiricilik uygulamalarının etkisi bulunmaktadır [26]. Ayrıca hasat sonrası uygulamalar (kurutma yöntemleri, kurutma süresi, distilasyon/ekstraksiyon yöntemleri ve süresi, depolama koşulları vb) da ürünün verim ve kalitesinin belirlenmesinde etkili olmaktadır. Aromatik bitkilerden elde edilen ürünün verim ve kalitesinin belirlenmesinde etkili olan hasat sonrası uygulamalardan biri de hasat edilmiş olan taze herba veya yaprakların kurutulma süreleridir [26, 29].

Yapılan çalışmada farklı kurutma sürelerinin züfa otunun dekara herba verimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, verim değerlerinin 589.75-2306.00 kg da<sup>-1</sup> arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 3). En yüksek değer biçimden hemen sonra herhangi bir kurutmaya tabi tutulmadan yapılan herba tartımdan elde edilmişken, en düşük verim ise 72 saat süreyle yapılan kurutmadan elde edilmiştir. Dekara taze herba veriminin 24 saat kurutulmasıyla % 47.15 ağırlık kaybına uğrarken, 48 saatlik kurutmada % 69.56 ve 72 saatlik kurutmada ise % 76.45'lik ağırlık kaybına uğramıştır. Bu durum kurutma süresinin uzamasıyla herbadaki su kaybının devam ettiğini ve sonuçta birim alandaki herba veriminde düşüş yaşandığını göstermektedir. Çalışmadan elde edilen taze herba değeri [13]'nin bildirmiş olduğu taze herba verimi olan 1500 kg da<sup>-1</sup> değerinden daha yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan kuru herba verimi değerlerimiz de aynı şekilde [13]'nin bildirmiş olduğu kuru herba verimi olan 300-400 kg da<sup>-1</sup> değerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum çalışmada kullanılan züfa otu bitkisinin genotipik farklılığıyla ve çalışmaların yürütüldüğü bölgelerin ekolojik farklılığıyla açıklanabilir. Kurutma sürelerine bağlı olarak herba veriminde ortaya çıkan değişim ise taze herbada % 70-80 oranında bulunan suyun kurutma esnasında evaporasyonla kaybedilmiş olmasıyla açıklanabilir [26].

Değişen kurutma süreleri yaprak+çiçek veriminde de önemli düzeyde (p<0.01) değişime neden olmuştur. Yürütülen çalışmada yaprak+çiçek veriminin 132.50-1222.25 kg da<sup>-1</sup> arasında değiştiği tespit edilmiştir. Yaprak+çiçek veriminde de en yüksek verim taze yaprak+çiçekten elde edilirken en düşük verim ise 72 saat süreyle kurutulmuş olan yaprak+çiçekten elde edilmiştir (Tablo 3). Taze yaprak+çiçek verimine kıyasla farklı kurutma sürelerinde sırasıyla % 67.39, % 84.05 ve %89.16 oranında bir ağırlık kaybının yaşandığı görülmüştür. Züfa otu bitkisinin taze yaprak+çiçek oranlarında su oranı taze herbaya kıyasla daha yüksek olup, kurutmaya birlikte ağırlık kaybı da yaprak+çiçekte daha yüksek olmuştur. Herba veriminde olduğu gibi yaprak+çiçek veriminde de 48 saatlik kurutma süresinden elde edilen verim değeri ile 72 saatlik kurutma süresinden elde edilen değer istatistik olarak aynı grupta yer almıştır. Artan kurutma süresine bağlı olarak azalan verimler ise kurutma süresindeki artış ile meydana gelen bitki materyalindeki su kaybıyla açıklanabilir.

Çalışmada züfa otu bitkisinin taze herba ve taze yaprak+çiçeklerindeki uçucu yağ oranları ile farklı sürelerde kurutulan yaprak+çiçek materyallerinin uçucu yağ oranları tespit edilmiştir. En düşük uçucu yağ oranı taze herbalarda % 0.17 ile elde edilirken, taze yaprak+çiçek materyallerinde ise % 0.20 olarak belirlenmiştir. Taze herba ve taze yaprak+çiçeklerde uçucu yağ oranı bakımından önemli bir fark bulunamamış olup, aynı grupta yer almışlardır. Bu durum bitkinin yaprak+çiçeklerinde tüm herbaya kıyasla bir miktar daha yüksek uçucu yağ içermesine rağmen aynı zamanda da daha yüksek oranda su içermesiyle açıklanabilir. Çünkü taze herbanın içerisindeki bitki sapsarının su oranının taze yaprak+çiçek örneklerine kıyasla daha düşük olması nispi olarak taze herbada uçucu yağ oranını az da arttırmaktadır. En yüksek uçucu yağ oranı ise 72 saatlik kurutma süresinde % 0.96 olarak yaprak+çiçekte tespit edilmiştir. 24 ve 48 saatlik kurutma sürelerinde ise uçucu yağ oranı yaprak+çiçekte sırasıyla % 0.45 ve % 0.73 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Çalışmadan elde edilen uçucu yağ oranına ait rakamlar bize en düşük uçucu yağ oranını beklediği gibi taze herba ve taze yaprak+çiçeklerin verdiğini ve yaprak+çiçek örneklerinde ise artan kurutma sürelerine bağlı olarak da uçucu yağ oranlarında bir artışın olduğunu göstermiştir. Bu durum da artan kurutma sürelerine bağlı olarak materyallerde meydana gelen su kaybının materyallerdeki uçucu yağ içeriğini nispi olarak arttırmasıyla açıklanabilir. Çalışmada elde edilen uçucu yağ oranına ait değerlerimiz [14] ve [30]'ün bildirmiş oldukları (% 0.75-1.5) değerleri ile uyum göstermiştir. [4]'ün ve [13]'ün bildirmiş olduğu sırasıyla (%06-1.7), (%1.5-1.6) değerlerinin bu çalışmadan elde edilen uçucu yağ oranından yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Tablo 3. Farklı kurutma sürelerinin zufa otu bitkisinin verim ve kalite özellikleri üzerine etkisi.

		Herba Verimi (kg da <sup>-1</sup> )	Yaprak + Çiçek Verimi (kg da <sup>-1</sup> )
Kurutma Süreleri	Taze Ürün	2306.00 A	1222.25 A
	24 saat	1218.50 B	398.50 B
	48 saat	725.00 C	195.00 C
	72 saat	589.75 C	132.50 C
<b>Ortalama</b>		<b>1209.81</b>	<b>487.06</b>
C.V.(%):		<b>58.42</b>	<b>92.72</b>
FDeğerleri:		Uygulama: 226.01 **	Uygulama: 607.28**
L.S. D.(%):		Uygulama: 238.169	Uygulama: 93.82
		Uçucu Yağ Oranı (%)	Uçucu Yağ Verimi (L da <sup>-1</sup> )
Kurutma Süresi	Taze Herba	0.17 D	3.90 A
	Taze Yaprak + Çiçek	0.20 D	2.45 B
	24 saat	0.45 C	1.79 BC
	48 saat	0.73 B	1.43 C
Kurutma Süresi	72 saat	0.96 A	1.28 C
	<b>Ortalama</b>	<b>0.50</b>	<b>2.17</b>
C.V.(%):		<b>62.98</b>	<b>47.35</b>
FDeğerleri:		Uygulama: 201.95 **	Uygulama: 35.31 **
L.S. D.(%):		Uygulama: 0.104	Uygulama: 0.78

(\*) %5 düzeyinde önemli, (\*\*) %1 düzeyinde önemli, (öd) önemli değil

Farklı kurutma süreleri uçucu yağ verimi üzerinde önemli düzeyde ( $p < 0.01$ ) etkili olmuştur. En yüksek uçucu yağ verimi ( $3.9 \text{ L da}^{-1}$ ) herhangi bir kurutma işlemine tabi tutulmadan hasat edilen taze herbaların doğrudan distilasyona alınmasıyla elde edilmiştir. Bunu ise yine herhangi bir kurutma işlemine tabi tutulmamış taze yaprak+çiçekler ( $2.45 \text{ L da}^{-1}$ ) takip etmiştir. Artan kurutma sıcaklıkları ise yaprak+çiçeklerde uçucu yağ veriminde azalmaya neden olmuştur. 24, 48 ve 72 saatlik kurutma sürelerine bağlı olarak uçucu yağ verimleri sırasıyla  $1.79 \text{ L da}^{-1}$ ,  $1.43 \text{ L da}^{-1}$  ve  $1.28 \text{ L da}^{-1}$  olmuştur (Tablo 3). Taze herbaların uçucu yağ distilasyonunda kullanılmasıyla elde edilen uçucu yağ veriminin taze yaprak+çiçeğe kıyasla daha yüksek olması zufa otu bitkisinin saplarının da uçucu yağ içerdiğini göstermiştir. Diğer taraftan taze yaprak+çiçek materyalinin uçucu yağ veriminin farklı sürelerde kurutulmuş olan yaprak+çiçek materyallerinin verimine kıyasla daha yüksek olması kurutma esnasında artan süreye de bağlı olarak uçucu yağ kayıplarının yaşandığını göstermiştir. Ayrıca incelenen parametrelerde varyasyon katsayısının yüksek olması çalışmadaki uygulamaların bu parametrelerde oluşturduğu varyasyonun yüksekliği ile açıklanabilir..

#### 4. Sonuçlar ve tartışma

Eskişehir ekolojik koşullarında yapılacak olan zufa otu yetiştiriciliğinde en yüksek uçucu yağ verimi taze herbalara herhangi bir kurutma işlemi uygulanmadan distilasyona alınması ile elde edilmiştir. Fakat hasat edilen taze herbanın tümünün distilasyona alınmasının getireceği maliyet dikkate alındığında  $35^\circ\text{C}$ 'de 24 saat süreyle kurutulan yaprak + çiçek materyalinin distilasyonu önerilebilir. Çünkü, taze yaprak + çiçek materyalinin uçucu yağ verimi ile 24 saat süreyle kurutulmuş yaprak + çiçek materyalinin uçucu yağ verimleri arasında istatistiksel bakımdan herhangi bir fark bulunmamıştır. Fakat 24 saat süreyle yapılacak olan kurutma hem distilasyona alınacak toplam materyali azaltarak distilasyon masrafını düşürmekte ve hem de yaprak + çiçeklerin saplardan kolaylıkla ayrılmasına imkan sağlamaktadır. Daha uzun süreli kurutmalar ise uçucu yağ kaybına neden olduğu için önerilmemektedir.

#### Kaynaklar

- [1] Nanova, N., Slavova, Y., Nenkova, D. ve Ivanova, I. (2007). Microclonal propagation of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13, 213-219.
- [2] Fathiazad, F., Mazandarani, M. ve Hamedeyazdan, S. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* L. from Iran, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1(2), 63-67.
- [3] Kürkçüoğlu, M., Eser, Ş.A. ve Başer, K.H.C. (2016). Composition of the essential oil of the *Hyssopus officinalis* L. *subsp. angustifolius* (Bieb.) Arcangeli. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 3(2), 15-19.
- [4] Zawislak, G. (2013). The chemical composition of essential hyssop oil depending on plant growth stage. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 12(3), 161-170.
- [5] Said-Al Ahl, H.A.H., Abbas, Z.K., Sabra, A.S. ve Tkachenko, K.G. (2015). Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 1(2), 49-53.

- [6] Tavakoli, M. ve Aghajani, Z. (2016). The effects of drought stress on the components of the essential oil of *Hyssopus officinalis* L. and determining the antioxidative properties of its water extracts. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 6(2), 31-36.
- [7] Mitic, V. ve Dordevic, S. (2000). Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Serbia. *Physics. Chemistry and Technology*, 2(2), 105-108.
- [8] Kara, N., Baydar, H., Kayaalp, Ö., Boyar, S. ve Bayhan, A.K. (2014). Güneşte ve gölgede kurutmanın çördük otu (*Hyssopus officinalis* L.) uçucu yağ oranı ve kompozisyonuna etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1), 85-90.
- [9] Katar, N., Katar, D., Temel, R., Karakurt, S., Bolatkıran, İ., Yıldız, E. ve Soltanbeigi, A. (2019). Farklı hasat zamanlarının biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinin verim ve kalite özellikleri üzerine etkisi. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma (Biodicon)*, 12(3), 7-13 DOI: 10.5505/biodicon.2019.29292.
- [10] Hegazy, M.H., Alzuair, F.M.A., Mahmoud, A.A., Mohamed, H.F.Y. ve Said-Al Ahl, H.A.H. (2016). The Effects of zinc application and cutting on growth, herb, essential oil and flavonoids in three medicinal Lamiaceae Plants. *European Journal of Medicinal Plants*, 12(3), 1-12.
- [11] Amini, M., Yousefzadeh, S. ve Sadat-Asilan, K. (2018). A study on variations of essential oil yield and composition of *Hyssopus officinalis* L. affected by foliar application of zinc, iron and manganese. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 34, 131-143.
- [12] Gholamreza, N., Madani, H. ve Farahani, E. (2015). The assessment effects of bio and chemical fertilizers on vegetative growth and essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.), *Applied Ecology and Forestry Science*, 1(1), 1-4.
- [13] Zawislak, G. (2013). Morphological characters of *Hyssopus officinalis* L. and chemical composition of its essential oil. *Modern Phytomorphology*, 4, 93-95.
- [14] Moghtader, M. (2014). Comparative evaluation of the essential oil composition from the leaves and flowers of *Hyssopus officinalis* L. *Journal of Horticulture and Forestry*, 6(1), 1-5. DOI: 10.5897/JHF2013.0318.
- [15] Garg, S. N., Naqvi, A.A., Singh, A., Ram, G. & Kumar, S. (1999). Composition of essential oil from an annual crop of *Hyssopus Officinalis* grown in Indian Plains, *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 170-172.
- [16] Fathiazad, F. ve Hamedeyazdan, S. (2011). A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(17), 1959-1966.
- [17] Nile, S.H., Nile, A.S. ve Keum, Y. (2017). Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. 3. *Biotech*, 7: 76. DOI 10.1007/s13205-017-0706-9.
- [18] Kızıl, S., Güler, V., Kirici, S. ve Turk, M., (2016). Some agronomic characteristics and essential oil composition of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under cultivation conditions. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 15(6), 193-207.
- [19] Telci, İ., Sahbaz, N., Yılmaz, G. ve Tuğay, M.E. (2004). Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey. *Economic Botany*, 58(4), 721-728.
- [20] Cirlini, M., Mena, P., Tassotti, M., Herrlinger, K.A., Nieman, K.M., Dall'Asta, C. ve Rio, D.D. (2016). Phenolic and volatile composition of a dry spearmint (*Mentha spicata* L.) extract. *Molecules*, 21(8), 1007, DOI: 10.3390/molecules21081007.
- [21] Markovid, M.S., Boskovid-Vragolovid, N.M., Ristid, M.S., Pavidevic, V.P., Veljkovid, V.B. ve Milojevid, S.Z. (2017). Fractionation of the essential oil from juniper (*Juniperus communis* L.) berries by hydrodistillation and rectification. *Hemijaska industrija*, DOI: 10.2298/HEMIND161204009M.
- [22] Hassanain, A.A. (2011). Drying sage (*Salvia officinalis* L.) in passive solar dryers. *Research in Agricultural Engineering*, 57(1), 19-29.
- [23] Kandil, M.A.M., Sabry, R.M. ve Ahmed, S.S. (2016). Influence of drying methods on the quality of sage (*Salvia officinalis*), parsley (*Petroselinum crispum*) and nasturtium (*Tropaeolum majus*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(4), 1112-1123.
- [24] Ghorbanpour, M. ve Shahhoseini, R. (2017). Influence of distillation time on the content and constituent of essential oils isolated from Lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 1-7, DOI: 10.1080/0972060X.2017.1345648.
- [25] Beigi, M., Torki-Harchegani, M. ve Pirbalouti, A. G. (2018). Quantity and chemical composition of essential oil of peppermint (*Mentha ×piperita* L.) leaves under different drying methods. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 267-276.

- [26] Sourestani, M.M., Malekzadeh, M. ve Tava, A. (2014). Influence of drying, storage and distillation times on essential oil yield and composition of anise hyssop [*Agastache foeniculum* (Pursh.) Kuntze]. *Journal of Essential Oil Research*, 26(3), 177-184, DOI: 10.1080/10412905. 2014.882274.
- [27] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve deneme metotları* (381). Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- [28] Açıkgöz, N. (1993). *Tarımda araştırma ve deneme metotları*. İzmir: E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 478. ISBN-975-483-228-5.
- [29] Mammadov, R. (2014). *Tohumlu bitkilerde sekonder metabolitler*. Ankara:Nobel Akademik Yayıncılık, Yayın No: 841, Fen Bilimleri No: 978-605-133-743-2. S:412.
- [30] Moro, A., Zalacain, A., de Mendoza, J.H. ve Carmona, M. (2011). Effects of agronomic practices on volatile composition of *Hyssopus officinalis* L. essential oils. *Molecules*, 16, 4131 - 4139; DOI:10.3390/molecules 16054131.



## Determination of genetic divergence in some bread wheat varieties by IRAP and ISSR analyses

Zekiye Budak BAŞÇİFTÇİ<sup>1</sup>, Murat OLGUN<sup>1</sup>, Serap SUNAR<sup>\*2</sup>, Nalan Yildirim DOĞAN<sup>3</sup>, N. Gözde AYTER<sup>1</sup>,  
Guleray AGAR<sup>4</sup>

ORCID: 0000-0002-4034-2537; 0000-0001-6981-4545; 0000-0002-2011-1117; 0000-0002-5344-5367;  
0000-0002-5121-4303; 0000-0002-8445-5082

<sup>1</sup> Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Agriculture, Eskişehir, Turkey.

<sup>2</sup> Erzincan University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, Erzincan 24000, Turkey.

<sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Erzincan University, Erzincan, Turkey

<sup>4</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Ataturk University, Erzurum, Turkey

### Abstract

In this study, it was aimed to detect the differences of genotypes through the measurement of genetic distance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. The genetic diversity of 12 bread wheat genotypes (Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000, Yıldırım, Bezostaja 1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, Es 26, Alperbey, Atay 85 ad Eraybey) was examined through ISSR and IRAP techniques. As fast molecular techniques, ISSR and IRAP methods can be effectively included in breeding programs both for genetic exploration and evaluation and for the protection of elite breeding and production materials. 12 genotypes were classified into two main clusters in the dendrogram produced by using the ISSR and IRAP markers. While Cluster I included Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000 and Yıldırım, cluster II included Bezostaja 1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, Es 26, Alperbey, Atay 85 and Eraybey. Furthermore, the results obtained in this study indicated that ISSR and IRAP methods were effective for the definition of bread wheat genotypes.

**Keywords:** bread wheat genotypes, genetic difference, IRAP, ISSR

----- \* -----

## Bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin IRAP ve ISSR analizleri ile genetik farklılığının belirlenmesi

### Özet

Bu çalışmada ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) genotiplerinde genetik uzaklık ölçümü yapılarak genotip farklılıklarının tespiti amaçlanmıştır. 12 ekmeklik buğday genotipinin (Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000, Yıldırım, Bezostaja 1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, Es 26, Alperbey, Atay 85 ad Eraybey) genetik çeşitliliği ISSR ve IRAP teknikleri ile incelenmiştir. ISSR ve IRAP yöntemleri, hem genetik inceleme ve değerlendirme hem de elit yetiştirme ve üretim materyallerinin korunması için ıslah programlarına etkin bir şekilde dahil edilebilir. ISSR ve IRAP belirteçleri kullanılarak üretilen dendrogramda 12 genotip iki ana küme halinde sınıflanmıştır. İlk küme Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000 ve Yıldırım'ı içerirken, ikinci küme Bezostaja 1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, Es 26, Alperbey, Atay 85 ve Eraybey'i içermektedir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ISSR ve IRAP yöntemlerinin ekmeklik buğday genotiplerinin tanımlanmasında etkin olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** ekmeklik buğday genotipleri, genetik farklılık, IRAP, ISSR

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +904462245344; Fax.: +904462245343; E-mail: ssunar@erzincan.edu.tr

© Copyright 2021 by Biological Diversity and Conservation

Received: 02.11.2020;

Published: 15.04.2021

BioDiCon. 936-1120

## 1. Introduction

The request for grain exports is also growing because of increased prosperity and the increase in world population. Nevertheless, the requirement for feed grains and the request for future energy production are in tendency to enhance domestic demand. To get more products from the existing regions is the best way to acquire the desired increase in production [1].

In the world, wheat is the main source of nutrient. It is predicted that there would be 773 million ton of production in 2020/21 (FAO 2020/21). For nutritional requirements, it is necessary that increased population should increase in wheat production. The adverse effect of drought and high temperature on a crop can be minimized by avoiding stress at the most sensitive stages of crop development such as reproductive and grain-filling periods [2, 3]. Genotype x environment interactions (G x E), which alter the rankings of genotypes from site to site and from season to season, have restricted the rate of genetic advance for the areas in such environments [4,5,1,6]. New wheat cultivars are improved by breeders with the aim of increasing total production. Besides, the yield performances of these new cultivars are tested in different places. The success of a new wheat variety is based on its yield and adaptation potential in those places [7].

Genetic diversity has an essential role in the success of crop breeding programs and new cultivar improvement. Knowledge of genetic diversity has been successfully employed for efficient germplasm management and utilization, genetic fingerprinting and genotype selection, novel biotechnological methods have been efficiently employed in genotypic differences of genotypes [8, 9, 10]. In this study, it was aimed to detect the differences of genotypes through the measurement of genetic distance in bread wheat genotypes and to show the usability of chromosome mapping for different aims such as breeding programs, elite seed productions [11, 12].

## 2. Materials and methods

This study was conducted at Osmangazi University Agriculture College Eskişehir experimental station during the 2015-2016 crop growing season (36° 56' North, 30° 32' East, 788 m altitude). 12 bread wheat genotypes (Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000, Yıldırım, Bezostaja 1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, Es 26, Alperbey, Atay 85 ad Eraybey) were used in this study. The precipitation in 2015-2016 and long term years (1965-2016) was 342.1 mm and 322.6 mm, respectively. Moreover, minimum, maximum and average temperatures were found to be -3.8 °C, 32.4 °C, 8.4 °C; -9.4 °C, 28.4 °C, 7.9 °C for prolonged years in years 2015-2016. The soil properties in the experimental area were 301.7 mmol/kg in P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 357.4 mmol/kg in K<sub>2</sub>O, 1.05 % in CaCO<sub>3</sub>, and 2.02% in organic matter, 6.04 in pH, and 1.89 dS/m in electrical conductivity. We conducted experiments with three replications in random block design. Bread wheat genotypes were planted on the 15<sup>th</sup> of September with 475 seed/ m<sup>2</sup> rate. The plot had dimensions of 6 m / 1.2 m (7.2 m<sup>2</sup>). Sixty kg N ha<sup>-1</sup> (½ at sowing period and ½ at tillering period) and 60 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (at sowing) were administered. In this study, superphosphate (46% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) and ammonium sulfate (21% N) were used as fertilizer. Genotypes were collected on the 10<sup>th</sup> of July, and the seeds of the genotypes were kept for analysis.

### 1.1. Isolation of gDNA

The Qiagen DNA extraction kit (Qiagen, Hilden, Germany) was used to get the extract of genomic DNA (gDNA) from the powdered leaf materials, by following the manufacturer's directives. gDNA samples loading into agarose gel 1% (w/v) in 0.5xTBE (Tris-Borate- EDTA) buffer at 70 V was performed for 150 minutes. In order to check the quality and quantity of the amplified DNA products, a spectrophotometer (Qiagen, Qiaxpert Instrument, Germany) was used. Pure of sample DNA was used in ISSR and IRAP marker techniques.

### 1.2. IRAP amplification

As it is seen in Table 1, 10 primers had been used for the generation of IRAP profiles. A Bio-Rad thermocycler (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA) was used to perform PCR amplifications. The reaction mixtures (20 µl) were fixed as described below: 45 ng of g DNA, 1× buffer (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH=8.3), 1.5 mM of magnesium chloride, 0.2 µM of each dNTP, 0.5 U of Taq polymerase (Cinagen Co., Iran) and 10 pmol of each primer were added.

The PCR program for the IRAP was as the following: an initial denaturation 5 min at the temperature of 94°C, 35 cycles of 45s at the temperature of 95°C, 40s at the temperature of 55°C to 63°C (Table 1), 2 min at the temperature of 72°C, followed by a final extension of 5 min at the temperature of 72°C.

### 1.3. ISSR amplification

26 oligonucleotide primers were tested for ISSR amplifications, among which 12 primers were selected and used for future studies (Table 1). The PCR mixture (25µl) was prepared as the following: 40 ng of template DNA, 10x

buffer, 200 Mm of each of the four dNTPs, 1 U of Taq DNA polymerase, 0.5 mM of primer and 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>. Amplification was performed in a thermal cycler programmed for an initial denaturation at a temperature of 94°C for the period of 5 min followed with the following 35 cycles of 45 s at the temperature of 94°C, 1 min at the annealing temperature and 1 min at the temperature of 72°C, ends with a final extension stage of 7 min at the temperature of 72°C.

#### 1.4. Electrophoresis

The PCR products ( 27ml ) were blended with 6X gel loading buffer ( 3ml ) and exposed to agarose. The electrophoresis was then applied to separate them via 1.5% agarose gel (1.5% w/v) in 0.5xTBE buffer (Tris-Borate-EDTA) with was performed 70 V for the period of 150 min. Ethidium bromide solution (2 µl Etbr/100ml 1xTBE buffer) was used to stain the gel for 40 min, and The Bio Doc Image Analysis System with Uvi-soft analysis package (Cambridge, UK) was used to determine the amplified DNA products.

#### 1.5. Analysis

The TotalLab TL120 computer software program was used to evaluate the ISSR and IRAP bands. The scoring of PCR products was conducted as the presence (1) and absence (0) of band for all genotypes, and their analysis was performed. After the Jaccard (1908) similarity index was calculated using the data, the construction of a dendrogram was conducted based upon the relevant matrix with the UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average) technique..

### 3. Results

#### 1.1. IRAP and ISSR analysis

The results of our IRAP and ISSR analysis are presented in Table 1. Ten IRAP primers revealed specific and stable results in *wheat* genome (Table 1).

A total of 92 bands, 86.9% of which were polymorphic, were produced by ten IRAP primers. The percentage of polymorphic bands that were produced by each primer ranged from 66.6% to 100%. While the primer Copiar provided the highest number of bands (14), the Sukkula primer provided the lowest number of bands (6). The band sizes of the primers used were 15-25 bp.

Table1. Details of banding pattern revealed through IRAP and ISSR primers. (R = A, G; Y= C, T)

Mar-kers	Primer/primer Combination	Sequence (5'–3')	Length of amplified bands	No of bands	No polymorphic bands	Polymorphism ratio (%)
IRAP	Nikita	CGCATTGTGTTCAAGCCTAAACC	500- 1900	12	10	83.3
	LTR6150	CTGGITCGGCCCATGTCTATGTATCCACACATGTA	250- 1700	9	8	88.8
	3' LTR	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	750- 2300	8	8	100
	Sukkula	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	500- 1700	6	4	66.6
	Copiar	TTG AAC CCC TTT TGA TGT AT	300- 2000	14	12	85.7
	Stowaway	CTTATATTTAGGAACGGAGGGAGT	250- 1500	8	7	87.5
	5' LTR1	TTGCCCTAGGGCATAATTCCAACA	500- 2400	9	7	77.7
	5' LTR2	ATCATTCCCTCTAGGGCATAATTC	250- 1900	8	8	100
	WLTR2105	ACTCCATAGATGGATCTTGGTGA	600- 1800	7	6	85.7
	LTR6149	CTCGCTCGCCCACTACATCAACCGCGTTTATT	400- 2200	11	10	90.9
	Total		250- 2400	92	80	86.9
ISSR	ISR1	(CA) <sub>8</sub> G	500- 1900	10	8	80
	ISR2	(AC) <sub>8</sub> AT	300- 2600	14	12	85.7
	ISR3	(AC) <sub>8</sub> G	750- 2100	8	7	87.5
	ISR4	(AG) <sub>8</sub> GC	300- 1800	6	4	66.6
	ISR5	(AG) <sub>8</sub> YA	400- 2400	9	8	88.8
	ISR6	(AG) <sub>8</sub> TA	500- 1900	8	6	75
	ISR7	(GA) <sub>8</sub> YT	300- 2750	12	10	83.3
	ISR8	(AG) <sub>8</sub> YT	500- 1600	5	4	80
	ISR9	(CT) <sub>8</sub> T	600- 2000	13	11	84.6
	ISR10	(GT) <sub>8</sub> C	750- 1500	8	8	100
	ISR11	(GA) <sub>8</sub> T	500- 1200	12	11	91.6
	ISR12	(GA) <sub>8</sub> C	300- 1800	10	8	80
Total		300- 2750	115	97	84.3	

Twelve ISSR primers combinations were utilized for the analysis of genetic diversity in 12 wheat genotypes. As it can be seen in the table, a total of 115 scorable amplification products, 97 of which were polymorphic bands,



ranged from 300 to 2750 bp. Ratio polymorphism was found to be 84.3%. While the highest number of bands was acquired from primer ISR2 ( 14bands ), the lowest number of bands was acquired from ISR8 ( 5 bands). A combination of data from the IRAP and ISSR markers were used for the construction of the UPGMA dendrogram (Figure 1). 12 wheat genotypes were classified into 2 main clusters. While Cluster I included Bozkır, Harmankaya 99, Altay 2000, Yıldırım, , cluster II included Bezostaja -1, Ahmetağa, Müfitbey, Aldane, ES-26, Alperbey, Atay 85, Eraybey. While the greatest similarity was found between genotype Bozkır and Harmankaya 99 (0.113), the greatest dissimilarity was found between Bozkır and Eraybey (0. 892).

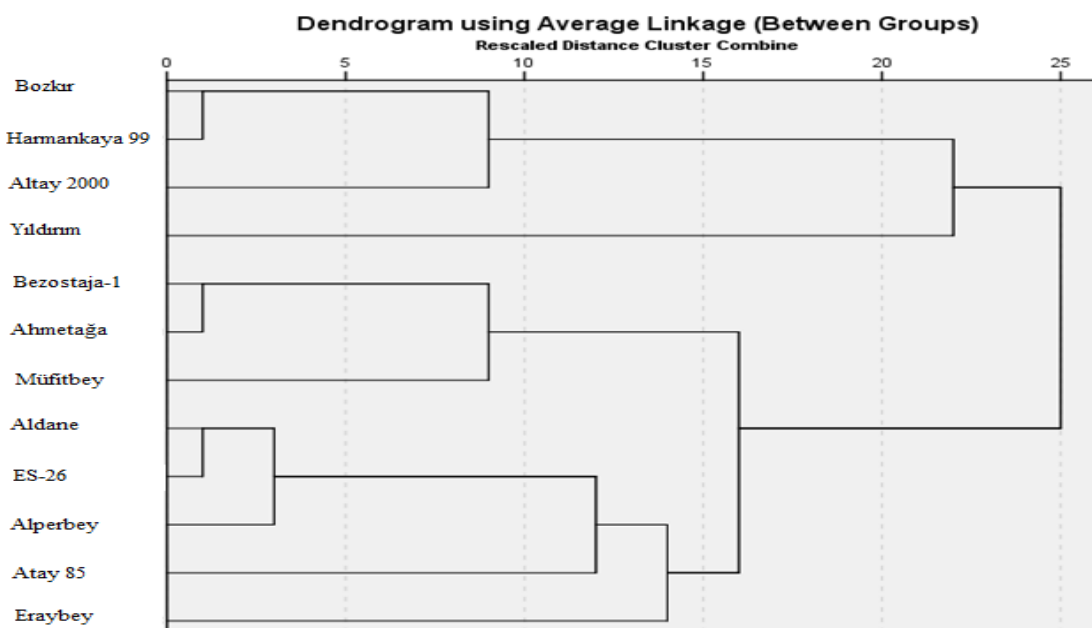


Figure 1. UPGMA clustering for 12 wheat genotypes based on IRAP and ISSR markers.

#### 4. Conclusions and discussion

The genotypes used in the study were improved as a result of long breeding studies, and each of them had different genetic characteristics/genetic capacity. Furthermore, each of them had a different capability to respond to biotic and abiotic stresses. These varieties are utilized as witness/control varieties in breeding studies and other scientific studies. Furthermore, these genotypes are also used as witness/control genotypes in breeding programs and other scientific studies. For instance, some genotypes have more resistance to yellow rust compared to others. Another one is more resistant to drought. Working with genotypes having different genetic characteristics/capacities refers to working with a wider genetic variation. Thus, to reveal their genetic similarity and the demonstration of this phenomena will help genetic progress in future breeding programs.

Retrotransposon-based molecular markers containing IRAP and REMAP have been used to examine genetic diversity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Retrotransposon sequences, between plant families can be easily used across species lines, among intimately related genera, and even sometimes between plant families [13, 14].

ISSR profiles were utilized to examine intra-specific genetic diversity analysis in many bread wheat genotypes [15]. They were successfully utilized for the prediction of genetic diversity in main crops such as maize [16], wheat [17], rice [18], barley [19] and cotton [20] It was reported by Carvalho et al. [21] that ISSR markers provided great potential for differentiating closely related wheat cultivars and botanical varieties and allowed for the determination of higher levels of polymorphism.

According to the similarity matrix (Fig. 1) Bozkır, Harmankaya 99; Bezostaja 1, Ahmetağa and Müfitbey; Aldane, Es 26, Alperbey and Atay 85 were determined to be close related varieties; furthermore, distant related varieties were Bozkır and Eraybey. Wide differences in genetic characteristics in bread wheat genotypes may enable to develop novel promising genotypes in germplasm of crop programs. The results indicated that IRAP and ISSR analyses were useful for the differentiation of the bread wheat genotypes tested in this study.

Wheat, which is the most consumed, cultured and most preferred plant of the world, will continue to be the plant that mostly occupies the agenda on production and breeding programs in the future.

To meet the food needs, that will rapidly increase in the future, can be achieved with the development of plants that are highly efficient, high quality, stable and resistant to stress. Such a goal is only achieved by effective and successfully implemented breeding programs with vast genotypic variation.

## References

- [1] Christopher, J.T., Manschadi, A.M., Hammer, G.L., Borrell, A.K. (2008). Developmental and physiological traits associated with high yield mand stay-green phenotype in wheat. *Australian J Agric Res*, 59,354–364.
- [2] Saini, H.S., Westgate, M.E., 2000. Reproductive development in graincrops during drought. *Adv. Agron.* 68, 59–96.
- [3] Hossain, A., Lozovskaya, M.V., Zvolinsky, V.P., Tutuma, N.V., (2012a). Effect of soil resources and climatic factors (temperature) onspring wheat and barley in the northern Bangladesh and southern Russia. Paper presented in “International scientific and practicalconference on problems of environmental management and con-servation of ecological balance in the arid zones”, held in “CaspianScientific Research Institute of Arid Agriculture”, Salt Zaymische,Chorniarsky district, Astrakhan State, Russia, from 16–18 May,2012.
- [4] Cooper, M., Woodruff, D.R., Phillips, I.G., Basford, K.E., Gilmour, A.R. (2001). Genotype-by-management interactions for grain yield and grain protein concentration of wheat. *Field Crops Res*, 69, 47–67.
- [5] Richards, R.A., Rebetzke, G.J., Condon, A.G., Herwaarden, A.F. (2002). Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci*, 42, 111–121.
- [6] Kaya, Y., Palta, Ç., Taner, S. (2002). Additive Main Effects and Multiplicative Interactions Analysis of Yield Performances in Bread Wheat Genotypes across Environments. *Türk J Agric Fort*, 26, 275-279.
- [7] Boubakar, M., Hammouda, M.B., Sakouhi, L. (1999). Adaptation and Yield Stability of Three Cereal Species in Semi-arid and Sub-humid Regions of Tunisia. *Secheresse*, 10(4), 273-279.
- [8] FAO (1998) .The States of the World’s Plant Genetic Resources for Food and Agriculture p 510 FAO Rome Italy.
- [9] Huang, X.Q., Börner, A., Röder, M.S., Ganai, M.W. (2002). Assessing genetic diversity of wheat (*Triticumaestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet*,105, 699–707.
- [10] Engles, J.M.M., Rao, V.R., Brown, A.H.D. & Jackson, M.T. (2002). Managing Plant Genetic Diversity. p 48, CABI Publishing UK.
- [11] Carvalho, A., Guedes-Pinto, H., Martins-Lopes, P., Lima-Brito, J. (2010). Genetic variability of Old Portuguese bread wheat cultivars assayed by IRAP and REMAP markers. *Annals of App biology*, 156(3), 337-345.
- [12] Nasri, S., Abdollahi Mandoulakani, B., Darvishzadeh, R., Bernousi, I. (2013). Retrotransposon Insertional Polymorphism in Iranian Bread Wheat Cultivars and Breeding Lines Revealed by IRAP and REMAP Markers. *Biochemical Genetics*, 51(11-12), 927–943.
- [13] Kalendar, R., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., Sjakste, T., Moisy, C. (2011). Analysis of plant diversity with retrotransposonbased molecular markers. *Heredity*, 106, 520-530.
- [14] Lou, Q., Chen, J. (2007). Ty1-copia retrotransposon-based SSAP marker development and its potential in the genetic study of cucurbits. *Genome*, 50, 802-810.
- [15] Giancarla, V., Emilian, M., Radu, S., Sorin, C., Sorina, P., Cerasela, P. (2012). The use of RAPD and ISSR markers for genetic diversity among some barley cultivars. *Rom Biotechnol Lett*, 17(4), 7493–7503.
- [16] Kantety, R.V., Zeng, X.P., Bennetzen, J.L. and Zehr, B.E.(1995). Assesment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. *Mol Breeding*,1, 365–73.
- [17] Nagoaka, T. and Ogihara, Y.(1997). Applicability of inter- simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet*, 94, 597–602.
- [18] Blair, M.W., Panaud, O. and Mc Couch, S.R.(1999). Inter- simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of micro-satellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*,98, 780–92.
- [19] Hou, Y.C., Yan, Z.H., Wei, Y.M. and Zheng, Y.I.(2005). Genetic diversity ib barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. *Barley Genetic Newsletter*,35, 9–12.
- [20] Şahin, C.B., İşler, N., Rustamova, V.(2020), Bazı Pamuk Çeşitlerinin ISSR Markörleri İle Karakterizasyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23, 108-116.
- [21] Carvalho, A., Lima-Brito, J., Maçãs, B. & Guedes-Pinto, H.(2009). Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. *Biochemical Genetics*, 47(3-4), 276-294.



## Medicinal properties of endemic Amanos mullein (*Verbascum amanum* BOISS) and Belen mullein (*Verbascum caesareum*) plant

Selim TAŞGIN <sup>\*1</sup>, Hasan ASİL <sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0001-8606-0626; 0000-0002-3690-1789

<sup>1</sup> Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 31060 Hatay, Turkey

<sup>2</sup> Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Altınözü Tarım Bilimleri MYO, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Programı,  
31060 Hatay, Turkey

### Abstract

This study was carried out in order to reveal the volatile components of the endangered Amanos mullein and Belen mullein tail by using the ultrasonic bath and GS-MS analysis. According to the results of the GC-MS library, compared to volatile components, a total of thirteen components were found in the Amanos mullein for the similarity relationships of chemical volatile components. Fourteen components were detected in the Belen mullein. Bioactivities of these components have been examined and summarized. The highest peak areas of Amanos mullein volatile compounds are 11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-, 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, 2-Pyrrolidinone, 1-methyl-, 2-dodecanol and Cyclohexasiloxane, dodecamethyl respectively. The highest peak areas of Belen mullein volatile compounds are 8-Octadecenoic acid, methyl ester, 2-pyrrolidinone, 1-methyl, 1-hexadecanol, cyclohexasiloxane, Dodecamethyl, and cyclopropane, Octyl-respectively. Endemic Amanos mullein and Belen mullein plant were found to be medicinal plants.

**Keywords:** amanos mullein, endemic, *Verbascum amanum* BOISS, *Verbascum caesareum*

----- \* -----

### Endemik Amanos Sığırkuyruğu (*Verbascum amanum* BOISS) ve Belen Sığırkuyruğunun (*Verbascum caesareum*) tıbbi özellikleri

#### Özet

Bu çalışma endemik Amanos Sığırkuyruğu ile Belen sığırkuyruğunun uçucu bileşenlerini ortaya çıkarmak için bitki ekstrakte edilmiş ve ultrasonic banyo yapılarak GS-MS analizi yapılmıştır. GC-MS kütüphanesinde sonuçlarına göre uçucu bileşenler kıyaslandığında, Amanos Sığırkuyruğunda kimyasal uçucu bileşenlerinin benzerlik ilişkileri için toplam on üç bileşen bulunmuştur. Belen Sığırkuyruğunda ise toplam on dört bileşen tespit edildi. Bu bileşenlerin biyoaktiviteleri incelenmiş ve özetlenmiştir. Amanos Sığırkuyruğu uçucu bileşiklerin en yüksek pik alanları sırasıyla 11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-, 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, 2-Pyrrolidinone, 1-methyl-, 2-Dodecanol ve Cyclohexasiloxane, dodecamethyl'dir. Belen Sığırkuyruğu uçucu bileşikleri en yüksek pik alanları sırasıyla 8-Octadecenoic acid, methyl ester, 2-Pyrrolidinone, 1-methyl, 1-Hexadecanol, Cyclohexasiloxane, dodecamethyl ve Cyclopropane, octyl-'dir. Endemik Amanos Sığırkuyruğu ve Belen Sığırkuyruğu bitkisi tıbbi bitki özelliğinde bitki oldukları ortaya çıkarılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** amanos sığırkuyruğu, endemik, *Verbascum amanum* BOISS, *Verbascum caesareum*

#### 1. Giriş

Sığırkuyruğu, geleneksel veya bitkisel tıbbında uzun yıllardır bitkisel ilaç olarak kullanılır. Astım, solunum, hemoroit, saç dökülmelerine karşı tedavi edici bir şekilde kullanılmıştır. Araştırmalar Sığırkuyruğu güçlü anti-

inflamatuar aktiviteye sahip olduğunu ve ayrıca çiçeğinin antiviral özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Sığırkuyruğu türleri geleneksel tıpta mantar enfeksiyonları ve cilt yaralarında, romatizmal ağrılarda, ishal, lenfosittik lösemiye, A2 ve B grip virüslerine karşı inhibitör aktivitesi ve tedavi edici özelliği bulunmaktadır [1-2].

Sığırkuyruğu (*Verbascum* L.) (Scrophulariaceae) dünyada yaklaşık 360 tür içerir [3]. Türkiye’de, 130 melez ilavesi ile 246 tipi bilinmektedir [4-6]. Türkiye florası Sığırkuyruğu bakımından dünyada önemli bir yere sahip olup %85 edemimiz ve tür sayısı bakımından da ikinci sırada yer almaktadır [7].

Amanus Sığırkuyruğu (*Verbascum amanum* BOISS.) yalnız Hatay ilinde bulunan amanos dağlarından alan endemik bir tür olup 1879 yılında Boissier tarafından bilim dünyasına tanıtılmıştır [8-10]. *Verbascum caesareum* ve *Verbascum amanum*, Hatay ilinde doğal olarak yetişen *verbascum* türleridir [2]. Belen Sığırkuyruğu (*Verbascum caesareum*) ülkemizde sadece Hatay ili Belen ilçesinde yayılış gösteren bir sığırkuyruğu türüdür [10].

Günümüzde ultrasonik ekstraksiyon yöntemi birçok tıbbi bitki, gıda ve endüstriyel birçok alanda kullanılmaktadır [11]. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde gıdanın fiziksel ve kimyasal olarak değişime uğramadığı için tercih edilmektedir [12]. Ayrıca ekstraksiyon süresinin kısaltan organik solvent tüketimini azaltmaktadır ve çevresel kirliliği neden olmadığı için tercih edilmektedir [13].

Verbascum’un kimyasal bileşenleri Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)’te tanımlanmış ve organik çözücüler kullanılarak ultrasonik çözücü ekstraksiyonu (USE) yöntemi, oda sıcaklığında uçucu, biyoaktif ve aroma verici bileşiklerin izolasyonu sağlanmıştır. Ultrasonik çözücü ekstraksiyonu (USE) metodu, numune matrisi ve solvent arasında yüksek verimli temas sağlamaktadır. Ultrasonik ekstraksiyonun kimyasal bileşenlerin çözülmesin ve verimliliğinde doğrudan bir etkisi vardır [14-15].

Bu çalışmada, Türkiye’nin Hatay ilinde doğal yayılış gösteren *Verbascum caesareum* ve endemik *Verbascum amanum* bitkilerinin uçucu bileşenlerinin USE metodu kullanılarak, GC-MS ile ayırma, bileşenlerin saptanması ve bu bitkilerin tıbbi özelliklerinin belirlenmesi için gerçekleştirilmiştir.

## 2. Materyal ve yöntem

### 2.1. Materyal

Sığırkuyruğu numuneleri Hatay’da Amanos dağındaki doğal yetişme ortamlarından toplanmıştır. Verbascumlar oda sıcaklığında kurutulmuş ve ışısız ortamda saklanmıştır. Çözücü olarak Metanol ve Etil asetat kullanılmıştır.

### 2.2. Ekstraksiyon prosedürü

Amanos sığırkuyruğu ve belen sığırkuyruğu bitkisinin ekstraksiyonu, ultrasonik banyo kullanılarak ultrasonik destekli çözücü ekstraksiyon yöntemine (giriş gücü 180 W, 35 kHz serbest ve 25 ° C) göre gerçekleştirilmiştir. Amanos Sığırkuyruğu örneğinin ekstraksiyonu şu şekilde gerçekleştirilmiştir: 4 g Sığırkuyruğu çiçeği ve 4 g Sığırkuyruğu yaprağı karıştırılmış ve öğütüldükten sonra içerisinden 1 g numune alınmıştır. Belen Sığırkuyruğu örneğinin ekstraksiyonu ise: 4 g Sığırkuyruğu çiçeği ve 4 g Sığırkuyruğu yaprağı karıştırılmış ve öğütüldükten sonra içerisinden 1 g numune alınmıştır [16-17]

Balon joje şişe içerisine ekstraksiyon çözücüsü olarak (18–42 mL) metanol: etil asetat (70:30) karışımı ile doldurulmuştur. Sığırkuyruğu numuneside eklendikten sonra Ultrasonic banyoda 15 dk. 25 °C’de sonikasyona tabi tutuldu. Filtre kağıdında süzülükten sonra elde edilen organik ekstrakt buzdolabında 4 °C’de ve GC-MS analizinden önce ışık yokluğunda saklandı. GC-MS analizi için 1 µL kullanılmıştır [16-17]

### 2.3. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) analizi

GC-MS analizi Hewlett-Packard 6890 serisi GC-MS analiz cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazın kolonu HP-5MS fused silica column (5% phenyl methyl polysiloxane 30 m 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm) ve dedektörü Hewlett-Packard mass selective detector 6890’dır. GC-MS analizi literatürde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Fırın 60 °C’ye ısıtılıp bu sıcaklıkta 1 dakika beklenir. Daha sonra sıcaklık dakikada 5 derece arttırılarak 200 oC’ye yükseltilip 1 dakika bekletilir. Son olarak sıcaklık dakikada 20 derece artırılarak 280 oC’ye yükseltilir ve 21 dakika beklenir. Helyum (%99.9999) taşıyıcı gaz olarak ve 1 mL/dakika akış hızında kullanılmıştır. Enjektör sıcaklığı 200 oC’de tutulmuştur. Ayrılma oranı 1:5’dir [18-19]

## 3. Bulgular

### 3.1. Amanos ve Belen Sığırkuyruğu bitkilerinin uçucu bileşenlerinin karakterizasyonu

Amanos ve Belen sığır kuyruklarının uçucu bileşenleri GC-MS ile USE yöntemiyle belirlenmiştir. Optimum koşullarda USE-GC-MS ile elde edilen Amanos Sığırkuyruğunun üretilen ve optimize edilmiş sistem için kimyasal formülleri ile birlikte elde edilen sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Belen Sığırkuyruğundan üretilen ve optimize edilmiş sistem için kimyasal formülleri ile birlikte elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Verbascum amanum Boiss* bitkisinin kimyasal komponentleri

No	Kimyasal Adı	Kapalı	Rt	%	MF	Kullanım Alanı
1	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	9.65	4.87	91	Drog
2	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>5</sub>	13.02	1.10	83	Farmakoloji - Biyolojite
3	2-Dodecanol	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	14.24	4.52	50	Biyolojite
4	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	C <sub>12</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>6</sub>	18.80	4.27	91	Farmakoloji
5	5-Octadecene, (E)-	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	20.82	3.83	83	Nf
6	Cycloheptasiloxane,	C <sub>14</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>7</sub>	24.18	2.77	90	Nf
7	5-Octadecene, (E)-	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	26.85	3.13	91	Nf
8	Heptasiloxane,	C <sub>14</sub> H <sub>44</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>7</sub>	29.04	1.37	33	Nf
9	11-Octadecenoic acid, methyl	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	47.55	59.23	99	NF
10	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	47.95	6.49	95	Biyolojite
11	Heptadecanoic acid, 16-methyl-,	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	49.60	5.40	98	NF
12	13-Octadecenal, (Z)-	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	60.28	0.37	38	Nf
13	Tetradecanoic acid, 12-methyl-,	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	61.70	2.65	72	Nf

\*MW molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % kısmi pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik faktörü ve NF bulunamadı olarak verilmiştir.

GC/MS sonuçları incelendiğinde, Amanos Sığırkuyruğunda kimyasal uçucu bileşenlerinin benzerlik ilişkileri için toplam on üç bileşen bulunmuştur. Belen Sığırkuyruğunda ise toplam on dört bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerin biyolojileri incelenmiş ve özetlenmiştir. Amanos sığır kuyruğu bileşenleri incelendiğinde en yüksek bileşenin %59.23 ile 11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-bileşeninin olduğu tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla %6.49 ile 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester ve %5.40 ile Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester bileşeni takip etmektedir (Tablo 1).

Tablo 2. *Verbascum caesareum* bitkisinin kimyasal komponentleri

No	Kimyasal Adı	Kapalı	Rt	%	MF	Kullanım Alanı
1	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	9.68	9.74	91	Drog
2	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>5</sub>	13.06	1.68	74	Farmakoloji - Biyolojite
3	Cyclopropane, octyl-	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	14.27	3.79	72	Nf
4	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	C <sub>12</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>6</sub>	18.90	5.24	58	Farmakoloji
5	1-Hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	20.91	6.92	91	Drog
6	Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,	C <sub>14</sub> H <sub>50</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>8</sub>	24.23	2.69	33	Nf
7	5-Octadecene, (E)-	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	26.89	5.35	90	Nf
8	Benzeneethanamine, N-[(pentafluoro	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> F <sub>5</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>2</sub>	29.07	1.40	25	Nf
9	2-Dodecanol	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	32.34	2.47	59	Biyolojite
10	8-Octadecenoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	46.68	53.45	99	NF
11	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	47.00	1.88	74	Biyolojite
12	10-Octadecenoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	47.07	2.07	91	NF
13	13-Octadecanoic acid, methyl ester	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	48.79	0.94	91	Biyolojite
14	Tetradecanoic acid, 12-methyl-, me	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	61.03	2.38	53	Nf

\*MW molekül ağırlığı, Rt alıkonma zamanı, % kısmi pik alanının toplam pik alanına oranı, MF kütüphanedeki benzerlik faktörü ve NF bulunamadı olarak verilmiştir.

GC/MS sonuçları incelendiğinde, Belen Sığırkuyruğu bileşenleri biyoaktiviteleri incelenmiş ve özetlenmiştir. Belen sığır kuruğu bileşenleri incelendiğinde en yüksek bileşenin %53.45 ile 8-Octadecenoic acid, methyl ester bileşeninin olduğu tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla % 9.74 ile 2-Pyrrolidinone, 1-methyl- ve % 6.92 ile 1-Hexadecanol bileşeni takip etmektedir (Tablo 2).

Tablo 3. *Verbascum amanum* Boiss ile *Verbascum caesareum* bitkisinin kimyasal komponentleri karşılaştırılması

No	Kimyasal Adı	<i>Verbascum amanum</i>	<i>Verbascum caesareum</i>
		%	%
1	2-Pyrrolidinone, 1-methyl	4.87	9.74
2	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	1.10	1.68
3	2-Dodecanol	4.52	2.47
4	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	4.27	5.24
5	5-Octadecene, (E)-	6.96	5.35
6	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl	2.77	nf
7	Heptasiloxane,	1.37	nf
8	Cyclopropane, octyl-	nf	3.79
9	1-Hexadecanol	nf	6.92
10	Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,	nf	2.69
11	Benzeneethanamine, N-[(pentafluoro	nf	1.40
12	8-Octadecenoic acid, methyl ester	nf	53.45
13	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e	6.49	1.88
14	10-Octadecenoic acid, methyl ester	nf	2.07
15	11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	59.23	nf
16	13-Octadecenal, (Z)-	0.37	0.94
17	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl	5.40	nf
18	Tetradecanoic acid,12-methyl-, methyl	2.65	2.38

Amanos Sığırkuyruğu ve Belen Sığırkuyruğunu ile ilgili karşılaştırma yaptığımızda Amanos Sığırkuyruğunda olan dört bileşen belen Sığırkuyruğun bulunmamaktadır. Belen Sığırkuyruğunda olan altı bileşende Amanos Sığırkuyruğunda bulunmamaktadır. Aynı ekstraksiyon yöntemine rağmen, aynı ekstraksiyon solventi ve aynı miktardaki numuneler kullanılmış, Amanos ve Belen sığır kuyrukları için farklı uçucu bileşenler ve bileşenlerin farklı miktarları tespit edilmiştir. Amanos Sığırkuyruğunda 11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)- %59 oranında bulunurken Belen Sığırkuyruğunda bulunmamaktadır. Belen Sığırkuyruğunda ise 8-Octadecenoic acid, methyl ester % 53.45 oranında bulunurken Amanos Sığırkuyruğunda bulunmamaktadır. Her iki Sığırkuyruğunda benzer bulunan bileşenler incelendiğinde birbiri arasında farklılıklar gözlenmektedir. Aynı ilde bulunan iki Sığırkuyruğunun farklı sonuçlar vermesi tür farkında kaynaklanmaktadır.

Amanos ve Belen sığır kurukları bitkisinin biyoaktivitesinin ilaç, farmakoloji ve biyoaktivite özelliklerine sahip olduğu ve tıbbi bitki özelliklerine sahip olduğu bulunmuştur.

#### 4. Sonuçlar ve tartışma

Bu çalışmada Hatay florasında doğal olarak yetişen endemik Amanos Sığırkuyruğu ile Belen Sığırkuyruğunun kimyasal bileşenleri karşılaştırılmıştır. Her iki bitki türün metanol / etil asetat karışımından elde edilen ekstraktlarda birçok biyoaktif bileşen bulunduğunu tespit edilmiştir. Amanos Sığırkuyruğunda kimyasal uçucu bileşenlerinin benzerlik ilişkileri için toplam on üç bileşen bulunmuştur. Belen Sığırkuyruğunda ise toplam on dört bileşen tespit edilmiştir. Ancak sekiz bileşen her iki bitki türünde de olduğu tespit edilmiştir. Amanos Sığırkuyruğunda bulunan Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl, Heptasiloxane, 11-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-, Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester bileşenler Belen Sığırkuyruğunda tespit edilememiştir. Aynı şekilde Belen Sığırkuyruğunda bulunan Cyclopropane, octyl-, 1-Hexadecanol, Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9, Benzeneethanamine, N-[(pentafluoro, 8-Octadecenoic acid, methyl ester ve 10-Octadecenoic acid, methyl ester bulunan kimyasal bileşenler amanos Sığırkuyruğunda tespit edilememiştir.

*Verbascum thapsus* bitkisinin uçucu yağ komponentleri üzerine yapılan bir çalışmada 92 element bulunmuştur. Bu çalışmadaki Dodecanol, Tetradecane ve Hexadecanol gibi uçucu komponentler *Verbascum thapsus* bitkisinde de yer almaktadır [20].

*Verbascum pseudoholotrichum* ile ilgili yapılan bir çalışmada bulunan Tetradecanoic acid bileşenleri Amanos Sığırkuyruğu ve Belen Sığırkuyruğunda da bulunmuştur [21].



Sonuç olarak; Birçok hastalığın tedavisi için araştırmalar devam etmekte ve bu konuda tıbbi bitkiler araştırılarak yeni ilaçlar için ümit var görünmektedir. Tıbbi bitkilerin biyolojik aktivitelerini öğrenmek anlamında her geçen gün artan bir ilgi var. Bu biyoaktif maddeler, birçok farmakolojik aktiviteden sorumludur. Diğer bulgulara dayanarak, çalışmalarımız farklı tıbbi ve aromatik bitkilerin kimyasal bileşimlerine odaklanacaktır. Bu çalışmanın gelecekteki çalışmalar için bir rehber olacağını umuyoruz. Amanos Sığırkuyruğu ve Belen Sığırkuyruğunun bitkisi ile ilgili gelecekteki çalışmalar, bu etken maddelerin izole edilmesinde ve ilaç endüstrisine katkıda bulunacağını düşünölmektedir.

## Kaynaklar

- [1] Sener, A., & Dulger, B. (2009). Antimicrobial activity of the leaves of *Verbascum sinuatum* L. on microorganisms isolated from urinary tract infection. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 778-781.
- [2] Tekeli, Y., Danahaliöglu, H., & Güzel, Y. (2014). Hatay Bölgesinde Yetişen Bazı *Verbascum* Türlerinin Yağ Asidi Kompozisyonlarının Belirlenmesi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (2), 26-33.
- [3] Mabberley, D.J. (2008). *Mabberley's plant-book* (3th ed.). Cambridge University Press. Cambridge: XVIII + 1021.
- [4] Huber-Morath, A. (1978). *Verbascum* L. In: Davis, P.H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 6. Edinburgh: Edinburgh Univ. Press, 461–603.
- [5] Karavelioğulları, F.A. 2009. A new record *Verbascum szovitsianum* Boiss. var. *szovitsianum* (Scrophulariaceae) from Turkey. *Biodicon* 2 (2): 68–70.
- [6] Karavelioğulları, F.A. 2015. New species and new hybrid of genus *Verbascum* L. (*Verbascum mecit-vuralii* Karavel. *Verbascum x ersin-yücelii* Karavel.) from Turkey. *Biodicon* 8 (1): 78–82
- [7] Erik, S. & Tarıkahya, B., (2004). On Flora of Turkey. *Kebir* by, 6, 139-163.
- [8] Ekim, T. (2007). Türkiye'nin Nadir Endemikleri. *Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları*, 11213, 465
- [9] Torlak, H., Vural, M & Aytaç, Z., (2010). *Endemic Plants of Turkey*, Ministry Culture and Tourism Central Directorate of Revolving Funds, Ankara
- [10] Ocak, A., Kayıkçı, S. & Güzel, Y. (2014) Antakya'nın Doğal Bitkileri. *Hatay Büyükşehir Belediyesi Kültür Yayınları* No:3, 510-512.
- [11] Dedebaş, T., CAPAR, T. D., Ekici, L., & YALÇIN, H. (2021). Yağlı Tohumlarda Ultrasonik-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi ve Avantajları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (21), 313-322.
- [12] Cavuldak, Ö. A., Vural, N., & ANLI, R. E. (2016). Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu. *Gıda*, 41(1), 53-61.
- [13] Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., & Akkaya, Z. (2009). Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34(3), 175-182.
- [14] Lozano, P., Delgado, D., Gomez, D., Rubio, M. & Iborra J.L. (2000). A non-destructive method to determine the saffranal content of saffron (*Crocus sativus* L.) by supercritical carbon dioxide extraction combined with high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *J. Biochem. Biophys. Methods* 43, 367–378.
- [15] Pan, J., Xia, X.X. & Liang, J. (2008). Analysis of pesticide multi-residues in leafy vegetables by ultrasonic solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry* 15, 25–32.
- [16] Jalali-Heravi, M., Parastar, H., & Ebrahimi-Najafabadi, H. (2009). Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography–mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, 1216(33), 6088-6097.
- [17] Göktürk, E., & Asil, H. (2018). Hatay/Kırıkhan'da Yetiştirilen Safran (*Crocus sativus* L.) Stigmasının Ekstraktının GC-MS analizi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(3), 317-321.
- [18] Arpag, O. F., Duran, N., Açıkgül, F. C., & Türkmen, M. (2020). Comparison of Minimum Inhibitory Concentrations of *Hypericum Perforatum* L. Essential Oils, 0.2% Chlorhexidine and 10% Povidone-iodine Over *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(6), 1192-1205.
- [19] Türkmen, M., & Mert, A. Farklı azot dozlarının kişniş (*Coriandrum sativum* L.) yaş herba uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(3), 309-315.
- [20] Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., & Akbarzadeh, M. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Verbascum thapsus* L. *Journal of essential oil bearing plants*, 15(3), 373-379.
- Yabalak, E., Ibrahim, F., Eliuz, E. A. E., Everest, A., & Gizir, A. M. (2020). Evaluation of chemical composition, trace element content, antioxidant and antimicrobial activities of *Verbascum pseudoholotrichum*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-10.



## Seasonal changes in meat yields, chemical compositions and fatty acids of endemic Antalya barb (*Capoeta antalyensis*)

Soner ÇETİNKAYA <sup>\*1,2</sup>, Rahmi UYSAL <sup>1</sup>, Vedat YEGEN <sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0003-2877-1248; 0000-0002-7342-9380; 0000-0001-5349-1497

<sup>1</sup> Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, Fisheries Research Institute, Eğirdir, Isparta, Turkey

<sup>2</sup> Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, Mediterranean Fisheries Research, Production and Training Institute, Antalya, Turkey

### Abstract

The study aimed to determine the seasonal changes in meat yield, chemical composition and fatty acid of *Capoeta antalyensis*. The specimens were caught using the gill nets (16x16, 20x20, 25x25, 30x30, 35x35 and 40x40 mm mesh size) in the Sorgun Dam (Aksu, Isparta, Türkiye). A total of 45 fish were used for this purpose. The lengths of the fish were 18.8 -36.7 cm and their weights were 71.85-452.00 g. Meat yields were determined between 50.20%-56.42% for the skinned fillets, and between 40.65%-48.45% for the skinless fillets. The highest protein value was determined (as 15.73±0.18%) in the autumn. The significant variations were not determined for fat and ash value seasonally (p>0.05). The moisture content was lower in autumn than in other seasons. In the analysis of *C. antalyensis*, 27 different fatty acids were determined.

**Key words:** protein, fat, ash, moisture, EPA, DHA

----- \* -----

## Endemik Antalya sarıbalığının (*Capoeta antalyensis*) et veriminde, kimyasal bileşimlerinde ve yağ asitlerinde mevsimsel değişiklikler

### Özet

Çalışma, *Capoeta antalyensis*'in et verimi, kimyasal bileşimi ve yağ asidindeki mevsimsel değişiklikleri belirlemeyi amaçlamıştır. Örnekler, Sorgun Barajı'nda (Aksu, Isparta, Türkiye) solungaç ağları (16x16, 20x20, 25x25, 30x30, 35x35 ve 40x40 mm gözenek büyüklüğü) kullanılarak yakalandı. Bu amaçla toplam 45 balık kullanılmıştır. Balıkların uzunlukları 18.8-36.7 cm ve ağırlıkları 71.85-452.00 g idi. Et verimleri derili filetolar için% 50.20 -% 56.42 arasında ve derisiz filetolar için% 40.65 -% 48.45 arasında belirlenmiştir. En yüksek protein değeri sonbaharda belirlendi (% 15.73 ±% 0.18). Mevsimsel olarak yağ ve kül değeri için anlamlı farklılıklar saptanmadı (p> 0.05). Nem içeriği sonbaharda diğer mevsimlere göre daha düşüktü. *C. antalyensis* analizinde 27 farklı yağ asidi belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** protein, yağ, kül, nem, EPA, DHA

### 1. Introduction

The fish is eliminated by natural mortality, hunting mortality, or effects of predators, from the populations which they are found in. When considered within this perspective, our determined fish species, which spread in our inland waters, and the number of which is increasing day by day, complete their life without being used in any way and disappear by natural mortality. Catching these species from lakes, ponds, and rivers with suitable fishing gears and methods and using them with different processing techniques will contribute to the economy and human feeding.

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902422510585; Fax.: +902422510584; E-mail: cetinson\_70@hotmail.com

The most economical using way a resource is closely linked with recognizing every attribute of the resource. As a result of the fauna determinate studies that have been completed and continued in recent years, it has been shown that the inland water fish potential of our country is quite rich qualitatively [1, 2, 3] (There are 409 fish species in inland water and including 194 of which are endemic). By determining the nutritive characteristics of these species, the extant fisheries pressure on certain species in inland waters will thus be reduced.

The species belonging to the *Capoeta* genus, which spread on four continents, most of them are found in Turkey. Recent studies from Turkey shown 23 species were identified [1, 4, 5]. Those species in Turkey are consumed in various regions as human food. It is especially preferred with its hard structure, and flavor of the meat. However, the species is not a commercial fisheries subject. This is due to that it is not commercially made into a product by any processing method. The lack of knowledge of the nutritional properties of the species is another handicap. In this study, it was aimed to reveal the meat yield, chemical composition, and fatty acids of *Capoeta antalyensis* (Antalya barb). Thus, different perspectives related to this species (aquaculture or fisheries studies) will be developed.

## 2. Materials and methods

The fish used in the study were caught in a one-time fish sampling were carried out at Sorgun Dam in every season (Figure 1). The gill nets (16x16, 20x20, 25x25, 30x30, 35x35, 40x40 mm mesh) were used for sample fishing. A total of 45 fish were used for this purpose. All of them 14 of these were caught in spring, 10 in summer, 10 in autumn, and 11 in winter. In this study, no experimental study was done on animals (fish).

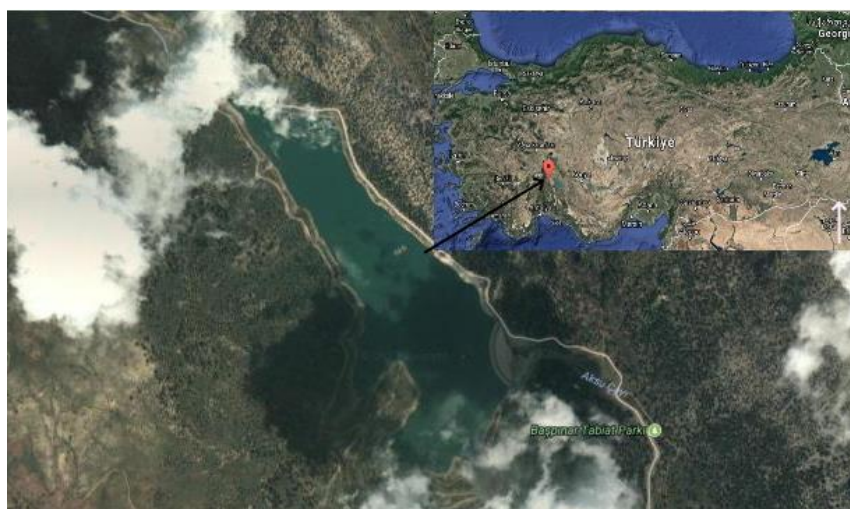


Figure 1. Study area

### 2.1 Physical measurements and assays

For meat yields and chemical compositions analysis, the fish caught in seasonal fishing were cooled with ice batteries in the transport cabinet and brought to the laboratory with a vehicle type refrigerator. Their lengths were measured (total length, with a 1mm precision measuring board), and their weights were weighed (with a 0.01 g precision digital balance). The sexual identification of fish was conducted macroscopically. The ages of the fish were determined from the scales. Visceral organs, heads, backbones, and fins were separated for the determination of meat yields. The skinned and skinless fillets weights, internal organs, spine and fins and head weights were weighed [6]. Then, fillets were homogenized with a blender, and total protein, total fat, moisture, and ash analyses were performed. Sufficient fish samples were kept for fatty acid analysis and stored at -80°C until analysis.

### 2.2 Chemical composition analysis

The moisture (%) was determined gravimetrically by automatic moisture determination device (Kern DBS, Germany). The total amount of fat (%) and the amount of ash (%) were determined according to Lovell [7]. Total protein (%) was determined by the Kjeldahl method (Nx6.25) according to AOAC [8] (Method no. 940: 25, (modified)). Carbohydrate (%) was determined mathematically by using a formula, (100- (Moisture + Fat + Protein + Ash)) [9].

### 2.3 Fatty acids analysis

The 5 g of previously homogenized fish meat was weighed and extracted by chloroform/methanol method. The chloroform was evaporated to procure the fish oil. 0.01 g of oil was weighed and 2 ml of hexane and 4 ml of 2M KOH were added. The mixture was shaken for 2 minutes by the vortex. After centrifugation for 10 minutes at 4000 rpm in the centrifuge, the upper clear hexane phase was taken into vials and read in the device [10].

GC conditions: The device Shimadzu TQ 8040 GC analyzer and MS detector were used. Column TRCN 100 (100 m x 0.25mm x 0.20µm). Column temperature 140°C, Injection temperature 240°C, Column temperature program 140°C 6 min, 4°C/min increase to 240°C and 10 min waiting time, Split rate 1/100, carrier gas He, flow rate 1.18 ml/min. Pressure 274.6 kPa, Injection Volume: 1µL, FAME, and NIST libraries were used.

MS conditions: Ion source temperature: 200°C, Interface temperature: 240°C, Solvent cutting time: 7.35 min, Scanning speed 1428, Mass range 41-450 m/z  $\dot{e}$  = 70V.

## 2.4. Statistics

One-way ANOVA was used to determine the variance differences of the data obtained. The DUNCAN multiple comparison tests were used to compare the groups at the 0.05 significance level [11].

## 3. Results

### 3.1 Mean values for meat yield of *C. antalyensis*

The lowest and highest values of weight for skinned and skinless fillets were obtained in spring. The lowest value of the skinned fillet was 37.01 g and for the skinless fillet 32.32 g. The highest weight was 255.00 g for the skinned fillet, and 219.00 g for the skinless fillet. The lowest and highest meat yields for skinned fillets were calculated as 50.2% and 56.42%. These values in skinless fillets were 40.65% and 48.45%, respectively. As a result of statistical comparison, visceral organs and heads weights showed significant differences in all seasons. Skinned and skinless meat yields in the summer were showed significant differences compared to other seasons (Table 1 and Table 2).

Table 1. The lowest and highest seasonal data of fish used to determine meat yields

Season		Total length (cm)	Weight (g)	Visceral Organ W (g)	Head weight (g)	Backbone and fins weight (g)	Skinned fillets weight (g)	Skinless fillet weight (g)	Skinned meat yield (%)	Skinless meat yield (%)
Spring (n=14)	Min.	18.8	71.85	12.19	10.43	10.31	37.01	32.32	51.51	44.98
	Max.	36.5	398.80	51.17	73.16	66.20	200.21	173.02	50.20	43.39
Summer (n=10)	Min.	19.9	75.00	5.00	13.00	12.00	42.00	36.00	56.00	48.00
	Max.	36.7	452.00	38.00	67.00	74.00	255.00	219.00	56.42	48.45
Autumn (n=10)	Min.	24.9	149.80	16.91	21.10	24.12	81.18	71.57	54.19	46.87
	Max.	28.8	223.28	25.35	33.04	40.98	122.52	104.65	54.87	47.78
Winter (n=11)	Min.	22.0	106.03	6.29	15.97	21.85	58.83	51.02	50.89	40.65
	Max.	26.1	152.37	13.29	28.20	27.00	77.54	61.94	55.48	48.12

Table 2. The seasonal mean data of fish used to determine meat yields

Criteria \ Season	Spring	Summer	Autumn	Winter
Total length (cm)	23.51±0.45 <sup>a</sup>	26.62±1.62 <sup>a</sup>	26.45 ± 0.42 <sup>a</sup>	26.42 ± 0.42 <sup>a</sup>
Weight (g)	132.31±6.22 <sup>a</sup>	08.28±39.54 <sup>a</sup>	195.20±43.04 <sup>a</sup>	173.16±9.01 <sup>a</sup>
Visceral organ weight (g)	10.07±0.88 <sup>b</sup>	35.68±9.12 <sup>a</sup>	20.10±4.25 <sup>ab</sup>	19.57±1.70 <sup>ab</sup>
Head weight (g)	17.59±1.42 <sup>b</sup>	35.56±6.61 <sup>a</sup>	31.50±6.54 <sup>ab</sup>	25.73±1.58 <sup>ab</sup>
Backbone and fins weight (g)	25.87±1.36 <sup>a</sup>	29.88±5.85 <sup>a</sup>	30.00±7.14 <sup>a</sup>	28.41±1.77 <sup>a</sup>
Skinned Fillet Weight (g)	71.28±2.89 <sup>a</sup>	101.29±18.08 <sup>a</sup>	104.50±23.75 <sup>a</sup>	94.48±5.02 <sup>a</sup>
Skinless Fillet weight (g)	61.90±2.56 <sup>a</sup>	87.48±15.76 <sup>a</sup>	90.60±20.36 <sup>a</sup>	81.79±4.27 <sup>a</sup>
Skinned meat yield (%)	54.06±0.66 <sup>a</sup>	49.87±0.98 <sup>b</sup>	53.29±1.16 <sup>a</sup>	54.56±0.62 <sup>a</sup>
Skinless meat yield (%)	46.98±0.84 <sup>a</sup>	43.19±1.01 <sup>b</sup>	46.46±1.11 <sup>a</sup>	46.26±0.72 <sup>a</sup>

\* The difference among the values indicated by the same letter was insignificant ( $p > 0.05$ ).

### 3.2 Seasonal variations of chemical compositions values

Ash values of *C. antalyensis* varied between  $1.00 \pm 0.03\%$  (winter) and  $1.42 \pm 0.21\%$  (autumn) (Table 3). The highest moisture content was obtained in the spring ( $81.73 \pm 0.18\%$ ) and the lowest autumn ( $79.83 \pm 0.12\%$ ). The highest protein value was determined in autumn ( $15.73 \pm 0.18\%$ ) and the lowest summer ( $14.06 \pm 0.38\%$ ). Total fat contents varied between  $2.38 \pm 0.11$  (spring) and  $2.87 \pm 0.37$  (summer). The lowest carbohydrate (CH) content was calculated in the spring and the highest in the autumn.

Table 3. Seasonal variations of the chemical composition of *C. antalyensis*

Season	Ash (%)	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid %	CH*
Spring	1.31±0.12 <sup>a</sup>	81.73±0.18 <sup>a</sup>	14.44±0.02 <sup>ab</sup>	2.38±0.11 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>
Summer	1.30±0.04 <sup>a</sup>	81.25±0.15 <sup>a</sup>	14.06±0.38 <sup>a</sup>	2.87±0.37 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>
Autumn	1.42±0.21 <sup>a</sup>	79.83±0.12 <sup>b</sup>	15.73±0.18 <sup>c</sup>	2.43±0.12 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>
Winter	1.00±0.03 <sup>a</sup>	81.26±0.54 <sup>a</sup>	14.84±0.12 <sup>b</sup>	2.59±0.03 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a</sup>

The difference among the values shown with the same letter was insignificant ( $p > 0.05$ ).

\*These data were obtained by calculation

### 3.3 Fatty acids analysis results

27 different fatty acids were identified in the seasonal analyses (Table 4). The number of fatty acids without double bonds (SFA) is 8, the number of fatty acids with one double bond (MUFA) is 7, and the number of fatty acids with two and more double bonds (PUFA) is 12. The five of these fatty acids were in the n-3 group, the six in the n-6 group, the two in the n-9 group, the one in the n-11 group, and the one in the n-12 group. C18:1n-11 and C19:0 in the autumn samples, and C22:2 fatty acids in the winter samples could not be detected (Table 4). n-6 / n-3 ratio was calculated in the lowest winter season (0.26) and highest in spring (0.37). The DHA / EPA ratio was determined in the lowest winter samples (1.48), and the highest autumn samples (1.97).

Table 4. Seasonal fatty acid values of *C. antalyensis* (%)

	Spring	Summer	Autumn	Winter
<b>C4:0</b>	0.80±0.30 <sup>a</sup>	0.49±0.24 <sup>a</sup>	0.92±0.2 <sup>a</sup>	0.19±0.12 <sup>a</sup>
<b>C14:0</b>	1.65±0.00 <sup>a</sup>	1.92±0.80 <sup>a</sup>	0.89±0.3 <sup>a</sup>	1.34±0.08 <sup>a</sup>
<b>C15:0</b>	0.61±0.08 <sup>a</sup>	1.81±0.15 <sup>c</sup>	1.81±0.2 <sup>c</sup>	1.11±0.12 <sup>ab</sup>
<b>C16:0</b>	10.58±4.1 <sup>ab</sup>	10.78±3.2 <sup>ab</sup>	8.31±0.91 <sup>ab</sup>	14.55±1.35 <sup>ab</sup>
<b>C16:1</b>	4.29±0.53 <sup>a</sup>	7.57±1.29 <sup>ab</sup>	6.37±0.87 <sup>ab</sup>	6.17±1.37 <sup>a</sup>
<b>C17:0</b>	4.40±3.49 <sup>ab</sup>	4.73±2.44 <sup>ab</sup>	8.40±1.47 <sup>b</sup>	2.71±1.76 <sup>ab</sup>
<b>C17:1</b>	0.28±0.08 <sup>a</sup>	0.87±0.30 <sup>a</sup>	0.31±0.04 <sup>a</sup>	0.73±0.26 <sup>a</sup>
<b>C18:0</b>	3.83±0.81 <sup>a</sup>	3.30±0.39 <sup>a</sup>	3.15±0.58 <sup>a</sup>	3.75±0.91 <sup>a</sup>
<b>C18:1</b>	3.83±0.81 <sup>b</sup>	0.98±0.86 <sup>a</sup>	1.79±0.34 <sup>ab</sup>	2.79±0.91 <sup>ab</sup>
<b>C18:1n-9(c)</b>	10.45±0.0 <sup>a</sup>	12.19±2.2 <sup>a</sup>	10.51±0.0 <sup>a</sup>	9.55±2.38 <sup>a</sup>
<b>C18:2n-6(t)</b>	0.79±1.36 <sup>a</sup>	0.82±0.38 <sup>a</sup>	2.32±0.28 <sup>ab</sup>	0.63±0.55 <sup>a</sup>
<b>C18:2n-6(c)</b>	0.89±0.00 <sup>a</sup>	2.98±1.17 <sup>a</sup>	2.43±0.19 <sup>a</sup>	2.78±0.18 <sup>a</sup>
<b>C18:3n-6</b>	1.50±0.74 <sup>a</sup>	0.54±0.29 <sup>a</sup>	0.56±0.07 <sup>a</sup>	0.52±0.15 <sup>a</sup>
<b>C18:1n-12</b>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	0.39±0.20 <sup>a</sup>	0.1±0.00 <sup>a</sup>	0.55±0.17 <sup>ab</sup>
<b>C18:1n-11</b>	0.31±0.00 <sup>a</sup>	0.86±0.31 <sup>a</sup>		0.26±0.10 <sup>a</sup>
<b>C19:0</b>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	0.36±0.00 <sup>a</sup>		0.23±0.10 <sup>a</sup>
<b>C22:5n-3</b>	2.98±0.00 <sup>a</sup>	5.12±0.94 <sup>bc</sup>	4.69±0.28 <sup>bc</sup>	5.70±0.30 <sup>bc</sup>
<b>C20:0</b>	4.75±0.32 <sup>b</sup>	0.15±0.04 <sup>a</sup>	0.18±0.06 <sup>a</sup>	0.25±0.08 <sup>a</sup>
<b>C18:3n-3</b>	0.30±0.00 <sup>a</sup>	6.19±2.48 <sup>ab</sup>	6.36±1.54 <sup>ab</sup>	7.31±2.08 <sup>ab</sup>
<b>C20:1n-9</b>	2.95±0.70 <sup>b</sup>	0.78±0.45 <sup>a</sup>	1.75±0.18 <sup>ab</sup>	0.64±0.27 <sup>a</sup>
<b>C20:2n-6</b>	0.65±0.06 <sup>b</sup>	0.25±0.08 <sup>a</sup>	0.24±0.05 <sup>a</sup>	0.31±0.13 <sup>a</sup>
<b>C20:3n-6</b>	0.66±0.26 <sup>a</sup>	0.50±0.03 <sup>a</sup>	0.66±0.11 <sup>a</sup>	0.59±0.03 <sup>a</sup>
<b>C20:3n-3</b>	0.84±0.00 <sup>a</sup>	0.46±0.12 <sup>a</sup>	0.36±0.22 <sup>a</sup>	0.24±0.11 <sup>a</sup>
<b>C20:4n-6</b>	6.05±0.80 <sup>a</sup>	3.78±0.74 <sup>a</sup>	4.77±0.27 <sup>a</sup>	3.98±0.91 <sup>a</sup>
<b>C22:2</b>	0.46±0.08 <sup>a</sup>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	0.29±0.06 <sup>a</sup>	
<b>C20:5n-3</b>	9.49±0.69 <sup>b</sup>	6.95±0.48 <sup>ab</sup>	7.14±0.33 <sup>ab</sup>	8.08±1.52 <sup>b</sup>
<b>C22:6n-3</b>	14.73±1.2 <sup>b</sup>	11.17±2.2 <sup>ab</sup>	14.08±0.7 <sup>ab</sup>	11.99±3.16 <sup>ab</sup>
<b>Σ SFA</b>	26.84	23.54	23.66	24.13
<b>Σ MUFA</b>	22.34	23.64	20.83	20.69
<b>Σ PUFA n-3</b>	28.80	30.12	32.92	33.32
<b>Σ PUFA n-6</b>	10.54	8.87	10.98	8.81
<b>n-6 / n-3</b>	0.37	0.29	0.33	0.26
<b>DHA/EPA</b>	1.55	1.61	1.97	1.48

\*Difference between the values shown with the same letter was insignificant ( $p > 0.05$ )

## 4. Conclusions and discussion

According to the data obtained by seasonally, the lowest average total length for all individuals was measured as 23.51±0.45 cm in the spring. The highest mean total length was 26.62±1.62 cm in the summer. There was no statistically significant difference in the total length values obtained in the seasons ( $p > 0.05$ ). It is seen that a similar

change occurs in weights values in parallel with the obtained length values. The mean minimum and maximum weight values were weighed  $132.31 \pm 6.22$  g and  $208.28 \pm 39.54$  in the spring and in the summer. There were no seasonal differences between mean weight values ( $p > 0.05$ ). The mean visceral organ weights were found to be lowest  $10.07 \pm 0.88$  g in the spring and  $35.56 \pm 6.61$  g in the highest summer season. The difference between the values obtained in the spring and summer seasons was significant ( $p < 0.05$ ). This may be due to the fact that the breeding period of the species is between these two seasons. The data obtained in the autumn and winter seasons did not differ from statistically ( $p > 0.05$ ). Head weights data were statistically similar to visceral organ weights data. There was no seasonal difference between the backbones and fins weights according to the results of the statistical evaluation ( $p > 0.05$ ). No statistically significant difference was found between skinned and skinless fillets weights obtained according to the seasons ( $p > 0.05$ ). Skinned and skinless meat yields obtained in the summer were significantly lower than those obtained in the other seasons ( $p < 0.05$ ). This can be explained by the high internal organs weights of the individuals obtained during summer. Because it is known that the nutritional requirement of the fish increases in this period, which coincides with the reproduction period.

Flavor and meat yield, which are effective in price formation, are mentioned as the most important quality criteria of fish and are reported to be effective on consumer preference [12]. As a commercial enterprise can demonstrate its profitability or want to calculate the efficiency of its economic inputs, also a conscious consumer will also want to know the gained benefits by his money [13]. In particular, lack of sufficient information on both meat yields and biochemical compositions of inland water fishes limit to use beneficial from those species. In this context, the studies to determine meat yield and nutrient contents for those species will be guiding in terms of raw material selection and processing technologies of seafood processing plants.

It is reported that the fish have an average meat yield of 30-60% [14]. Fish size, age, sex, and anatomical shape of the body, head size, internal organ weight, and full or empty of the digestive system affected the yields of the fillets and meats [15]. As the gonads of the female fish have a significant effect on the meat yield compared to the male fish, so it is not recommended to catch in the reproduction period [15]. If fish that are known to be in the breeding period are not caught, they will help prevent economic losses for enterprises and ensure the fish to retain their natural balance in their waters.

It was aimed to use at least 10 fish to determine the meat yield in each season. The total length values of the fish used for this purpose were measured from 18.8 to 36.7 cm. The weight values were weighed between 71.85 g and 452.00 g. In order to determine the meat yields, the edible parts of the fish were also weighed separately. Visceral organs were between 5.00 g - 51.17 g, heads weights 10.43 g - 73.16 g, and backbones and fins weights ranged from 10.31 g to 74.00 g. Fillet weights, which form the basis of meat yield, were weighed between 37.01 g and 255.00 g skinned, and 32.32 g to 219.00 g skinless. The meat yield obtained by calculation was determined between 50.20% - 56.42% in skinned fillets and 40.65% - 48.45% in skinless fillets. Skinned fillet meat yields did not fall below 50% in any season. Since the scale and skin of this species do not exhibit an undesirable/unfavorable feature during consumption, it may be advisable to consume the fillet skinned.

The meat yield values obtained from different localities and species of *Capoeta* genus: for *Capoeta capoeta umbla* 61.44% in Karasu river [16]; for *Varichorinus (Capoeta) pestai* (skinned) 62.74% in Konya area [19]; 62.51% for *Capoeta trutta* (average) in Keban Dam [17]; for *Capoeta capoeta umbla* age groups III, IV and V in Keban Dam (average) for;  $39.1 \pm 0.9\%$ ,  $46.7 \pm 1.9\%$ ,  $43.7 \pm 5.3\%$  respectively, and Hazar Lake;  $40.3 \pm 7.4\%$ ,  $40.9 \pm 2.5\%$ ,  $41 \pm 3.5\%$ , respectively [18]; for *Capoeta trutta* species 54.66% in the Atatürk Dam [19];  $45.03 \pm 0.02$  [20]; for *Capoeta trutta* (average) 57.57%, and for *Capoeta umbla* 61.92% in Uzunçayır Dam [21] were observed to be obtained. The fillets meat yield values for *Capoeta capoeta umbla* species obtained by Köprücü and Özdemir [18] is lower than the findings obtained in our study, but the values obtained in other studies are higher. When the species examined in the studies are considered to differ from, it is necessary to evaluate the obtained results of comparing meat yields as normal.

There was no seasonal difference for ash values in statistical analysis ( $p > 0.05$ ). On the other hand, autumn moisture value was lower than other seasons and this difference was significant ( $p < 0.05$ ). Protein values obtained in spring showed similarity with summer and winter values but showed significant ( $p < 0.05$ ) difference from values obtained in autumn. The highest protein value was  $15.73 \pm 0.18\%$  in autumn. Lipid values did not differ significantly ( $p > 0.05$ ). Carbohydrate (CH) values were obtained by calculation.

The chemical components of fish vary depending on various factors [6]. One of these factors is the season. Despite the low moisture content in autumn, high protein and ash content and low-fat content can be considered as an indicator that the species is well-fed before the winter season, and its somatic development increases during this season. The values of the protein content were varied between  $14.06 \pm 0.38\%$ - $15.73 \pm 0.18\%$  which indicates that the species can be considered as a good protein source.

As a reliable study was couldn't find in the literature subjected chemical composition of *C. antalyensis* the comparison was made with the other species belonging to the genus *Capoeta*. Dry matter, crude protein, fat, and ash values of surimi made from *Capoeta capoeta umbla* were 17.62%, 18.16%, 1.45%, 0.62% respectively [22]. The crude protein, crude oil, crude ash and dry matter ratios of surimi obtained from *Capoeta capoeta capoeta* were between 18.18-18.61%, 1.06-1.41%, 0.49-0.74%, and 17.28-18.88%, respectively [23]. For the *Capoeta trutta* male individuals in the Atatürk Dam for protein  $17.60 \pm 0.29\%$ , fat  $1.30 \pm 0.20\%$ , dry matter  $20.71\% \pm 0.54$ , ash  $1.38 \pm 0.06\%$  values



were obtained [26]. *Capoeta trutta* living in Atatürk Dam has a crude protein content  $18.22 \pm 3.13\%$ , crude ash content  $1.37 \pm 0.50\%$ , and  $82.46 \pm 0.30\%$  the moisture is reported [24].

Seafood with a high digestible protein content has a low content of fat compared to other high protein foods. On the other hand, especially when the n-3 group fatty acids are examined in terms of, the seafood oil shows very high values. It has been reported that seafood oils are the natural resource for Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which are among the n-3 group fatty acids, that have been shown to benefit on human health [25]. These fatty acids, which cause important biochemical and physiological changes in the human body, are recommended for their beneficial effects in the prevention and treatment of cardiovascular diseases, cancer, diabetes, and high blood pressure [26, 27, 28]. It is very important that the unsaturated fat content of the foods consumed is high. Fatty acids are collected in the eye, brain, testis, and placenta in the human body. It helps the eyes to function properly and perform brain functions properly. Regulates the concentration of fat in the blood [26].

Humans are not capable of synthesizing fatty acids have containing above 9 carbons atom double bonds when counted from the end of the carboxyl molecule. For example, linoleic acid (C18: 2n-6) that among the essential fatty acids non-synthesized in the human body, should be taken by the way foods [29]. The rate of fat in fish and their fatty acid composition contained in these oils may vary according to various factors such as species, individuals, body regions, nutrition, fishing season, and gender [26, 30]. The amount of fat in fish can be between 1% and 20% and in shellfish, it is less than 1% [26]. The fish oils contained 20% saturated and 80% unsaturated fatty acids, also 16, 18, 20, 22 carbons, and 1, 2, 3, 4, 5, 6 double bonds are reported. In addition to this, while free fatty acids are found in fish oil, the tocopherols with antioxidant properties very little contained, so oxidation in fish oils, color darkening, and rancidity are seen. Fat-free fish have phospholipids instead of triglycerides [31].

The fatty acids composition of fish oil increases the importance of fish in terms of nutrition. On the other hand, it is one of the factors that have a decisive effect on the aroma, flavor, and shelf life of the products during processing and storage of seafood products rich in fatty acids containing more than one double bond [30]. EPA and DHA, which are n-3 group fatty acids only found in fish, are found to be less in freshwater fish compared to marine fish [31]. Fatty acids of marine fish species are characterized generally by low levels of linoleic acid (18: 2n-6) and linolenic acid (18: 3n-3), and high amounts of long-chain n3 group polyunsaturated fatty acids [10]. The fatty acids composition of fish oils, particularly fatty acids (PUFAs) which contain more than one double bond, is varied according to the fatty acids of fats in foods consumed by fish. Fatty acids diversity varies according to the responses of the fish body adaptation mechanism against the changes in water temperature, salinity and depth [32]

In the seasonal analyses of *C. antalyensis* revealed 27 different fatty acids. C18: 1n-11 and C19: 0 were not detected in autumn samples, and C22: 2 fatty acids were not detected in winter samples. Among the without double-bonded fatty acids (SFA) C16: 0 had the highest value. Minimum and maximum values ranged between  $6.95 \pm 0.48\%$  in summer and  $9.49 \pm 0.69\%$  in spring for Eicosapentaenoic acid (EPA) whereas those for docosahexaenoic acid (DHA) between  $11.17 \pm 2.21\%$  in summer and  $14.73 \pm 1.28\%$  in spring. Low amounts of C19: 0 fatty acid was detected in the samples. The total values of without double-bonded fatty acids (SFA) were the lowest in summer 23.54% and the highest in winter 26.84%. The lowest total MUFA value was obtained in winter with 20.69%, and highest in summer with 23.64%. In the spring, the total value of n-3 group fatty acids was lower than the other seasons. The total values of n-6 group fatty acids were higher in spring and autumn compared to summer and winter seasons.

In another study in which the highest total MUFA value was obtained in summer, it was reported that this was due to increased enzyme activity during these months, and that fish could convert MUFA to n-3 and n-6 group fatty acids [33]. It is considered that the amount of palmitic acid (C16: 0), expressed as the key to metabolism, does not change depending on the presence of nutrients, but the fluctuating changes seen in some species may be related to water temperature [34].

It is reported that *Capoeta capoeta umbla* living in Keban Dam has higher fatty acids and nutritiousness are higher than *Capoeta trutta* [34]. It is reported that the first reaction to the change in environmental conditions is seen in total fat and fatty acids. So, in addition to the differences in habitat, the differences of the environmental conditions were effective on the fatty acids ratio and diversity in *Capoeta capoeta umbla* samples obtained Tuzla Creek and Tercan Dam [33]. The total SFA value in Tuzla Creek samples was higher (42.05% in summer) and the total MUFA value was generally higher in Tercan Dam samples, but, the highest value (28%) was obtained in Tuzla Creek in summer samples. While increasing the total amount of more than one double-bonded fatty acids (PUFA) and n-3 group PUFA of *Capoeta damascina*, which grown in freshwater and different salt ratio (6, 12, and 24 g/l) brackish water, although the ratio increasing of salt, the total amount of one double-bonded fatty acids significantly decrease [32]. Fallah et al., [32] reported that 100 g of the edible portion of *Capoeta damascina* grown in waters with a salt content of 6 and 12 g / l as well as freshwater is a good source of n-3 PUFA and especially EPA and DHA. A similar assessment is made for *Capoeta sieboldii* and *Capoeta baliki* according to the total lipid and fatty acid diversity in the liver and muscles and it is reported to have a high nutritional value for polyunsaturated fatty acids for human nutrition [35]

## Acknowledgement

This study was supported financially by the Republic Of Turkey Ministry Of Agriculture And Forestry General Directorate of Agricultural Research and Policies (Project Number: TAGEM/HSGYAD/16/A05/P03/114).

## References

- [1] Yeğen, V., Balik, S., Ustaoglu, M. R., Sari, H. M., İlhan, A., Uysal, R., Bostan, H., Bilçen, E., & Yağci, A. (2006). *Göller bölgesi balık faunasının tespiti*. (Project Report. TAGEM/HAYSÜD / 2001/09/02/01). Isparta (Eğirdir): Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü.
- [2] Balik, S., Ustaoglu, M. R., Sari, H. M., İlhan, A., & Topkara, E. T. (2008). *Türkiye'nin Marmara, Ege, Akdeniz ve İç Anadolu Bölgelerindeki endemik içsu balıklarının taksonomik durumlarının ve zoocoğrafik dağılımlarının güncelleştirilmesi*. (Proje No: 2004/SÜF/001). İzmir: Ege Üniversitesi.
- [3] Çiçek, E., Birecikligil, S. S., & Fricke, R. (2015). Freshwater fishes of Turkey: a revised and updated annotated checklist. *Biharean Biologist*, 9(2), 141-157.
- [4] Küçük, F., Turan, D., Şahin, C., & Gülle, İ. (2009). *Capoeta mauricii* n. sp., a new species of cyprinid fish from Lake Beyşehir, Turkey. *Zoology in the Middle East*, 47(1), 71-82, <https://doi:10.1080/09397140.2009.10638349>
- [5] Froese, R., & Pauly, D. (Eds) (2019). FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) version (12/2019). Retrieved on 4 September 2019.
- [6] Diler, A., & Becer, Z. A. (2001). Chemical composition and meat yield of vimba (*Vimba vimba tenella* (Nordmann, 1840)) in Karacaören I Dam Lake. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 25, 87-92
- [7] Lovell, R. T. (1981). *Laboratory Manuel for Fish Feed Analysis and Fish Nutrition Studies*. Alabama: Auburn University.
- [8] AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International 17<sup>th</sup> Edition*. 940.25 Nitrogen (total) in seafood. USA, American Oil Chemists' Society: Gaithersburg, Md.
- [9] Varlik, C., Özden, Ö., Erkan, N., & Alakavuk, D. Ü. (2007). *Su Ürünlerinde Temel Kalite Kontrol*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi.
- [10] Özogul, Y., Özogul, F., & Alagoz, S. (2007). Important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry*, 103-(1), 217-223. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.009>
- [11] Özdamar, K. (2001). *SPSS ile biyoistatistik*. Eskişehir: Kaan Kitabevi.
- [12] Çelik, C., Özdemir, Y., Aşan, T., & Patir, B. (1990). Proximate analysis, microbiological quality and meat yield of *Barbus capito pectoralis* caught in Keban Dam Lake. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7(25-26-27-28), 156-167.
- [13] Anil, N., Doğruer, Y., Nizamoğlu, M., Tufan, S., & Öz, K. (1989). Grading studies on fresh water fishes in Konya region. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(1), 29-35. [http://eurasianjvetsci.org/pdf/pdf\\_EJVS\\_810.pdf](http://eurasianjvetsci.org/pdf/pdf_EJVS_810.pdf)
- [14] Ergüden, S. A. (2014). Investigation of flesh productivity of tench, *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) in living Seyhan Reservoir (Turkey). *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(2014), 199-206.
- [15] Dağtekin, B. B. (G.), & Baştürk, Ö. (2014). The determination of meat yield and biochemical composition of prussian carp, (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) in the Çıldır Lake. *Yunus Arş. Bül.* 2014(2), 15-22.
- [16] Aras, M. S., Yanar, M., & Bircan, R. (1986). Karasu ırmağında yaşayan *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843)'nın et verimi ile çeşitli vücut organları arasındaki ilişkiler. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3-(9-10-11-12), 106-116.
- [17] Duman, E., & Duman, M. (1996). Meat yield and nutritional value of *Capoeta trutta* Heckel, 1843 and *Barbus rajanarum mystaceus* Heckel, 1843 caught frm Keban Dam Lake. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(1-2), 83-88.
- [18] Köprücü, K., & Özdemir, Y. (2003). Comparison of the meat yield and some growth characteristics of *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843) populations living in Keban Dam Lake and Hazar Lake, Elazığ. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20-(3-4), 337-343.
- [19] Patir, B., Çoban, Ö. E., & Düşükcan, M. (2009). The determination of some growth characteristics, meat yield and chemical composition of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) in Atatürk Dam Lake. *e-Journal of New World Sciences Academy*, 4-(2), 21-30.
- [20] Özyılmaz, A., & Palali, B. (2014). Meat Yields, Lipid Levels, and Fatty Acid Components of Some Fish from Ataturk Dam Lake. *Yunus Arş. Bül.* 2014 (3), 29-36.
- [21] Kaya, G. K., Mercan, R. E., Yüksel, F., Kurtoğlu, M., Yıldız, N., Gündüz, F., & Demiroğlu, F. (2013). Meat yield analysis of catfish (*Capoeta trutta* Heckel, 1843) and Shiraz (*Capoeta umbla* Heckel, 1843) living Tunceli Uzunçayır Dam Lake. *Yunus Arş. Bül.* 2013-(4), 9-14.
- [22] Yılmaz, H. (2000). *A research on processing possibility of surimi from chub (Leuciscus cephalus) and Siraz (Capoeta capoeta umbla) in fish species*. MSc Thesis. Atatürk University, Erzurum.

- [23] Arslan, H. Y. (2006). *Determination of shelf life of siraz (Capoeta capoeta capoeta) surimi by using various kryoprotektants at different storage temperatures*. PhD Thesis. Atatürk University, Erzurum.
- [24] Saraç, A. R. (2011). *The determination of fish freshness of Carosabarbus luteus and Capoeta trutta living in Atatürk Dam Lake*. Msc. Thesis. Harran University, Şanlıurfa.
- [25] Nollet, L. M. L., & Toldrá, F. (2010). *Seafood and seafood products analysis*. 910p, Boca Raton: CRC Press,
- [26] Kaya, Y., Duyar, H. A., & Erdem, M. E. (2004). The importance of fish fatty acids on human health. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(3-4), 365-370.
- [27] Turan, H., Kaya, Y., & Sönmez, G. (2006). Position in human health and food value of fish meat. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23, (1/3), 505-508.
- [28] Alak, G., Hisar, Ş. A., & Hisar, O. (2008). *Effect of salting and freezing methods on fish quality*. 5. Geleneksel Su Ürünleri Bilimsel ve Kültürel Platformu (Ulusal Sempozyum). Erzincan, Kemaliye.
- [29] Leaf, A., & Weber, P. C. (1988). Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *The New England Journal of Medicine*, 318, 549-557.
- [30] Özden, Ö., Metin, S., Baygar, T., & Erkan, N. (2001). *The examination of the changes in fatty acid and aminoacid composition to determine the quality of vacuum packaged marinated fish*. (Tubitak, Proje No: VHAG-1713/ADP). İstanbul: İstanbul Üniversitesi.
- [31] Özden, Ö., & Varlık, C. (2004). Marinat teknolojisi. In Varlık C, Erkan N, Özden Ö, Mol S, Baygar T (Eds.), *Su ürünleri isleme teknolojisi* (pp. 203-232). İstanbul: İstanbul Üniversitesi
- [32] Fallah, A. A., Nematollahi, A., & Saei-Dehkordi, S. S. (2013). Proximate composition and fatty acid profile of edible tissues of *Capoeta damascina* (Valenciennes, 1842) reared in freshwater and brackish water. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32, 150-154. <https://doi:10.1016/j.jfca.2013.09.004>
- [33] Aras, M. N., Güneş, M., Bayir, A., Sirkecioğlu, A. N., & Haliloğlu, H. İ. (2009). The comparison of total fat and fatty acid profiles with some bio-ecological features of *Capoeta capoeta umbla* HECKEL, 1843 living in Tuzla Stream and Tercan Dam Lake. *Ekoloji*, 19(73), 55-64.
- [34] Yılmaz, Ö., Konar, V., & Çelik, S. (1996). The total lipid content and fatty acid composition *Capoeta capoeta umble* and *Capoeta trutta* which in Keban Dam Lake. *Gıda*, 21(6), 477-483.
- [35] Görgün, S., Akpınar, N., & Dirican, S. (2014). A comparative study on the fatty acid profiles of total lipid, neutral and polar lipids in the liver and muscle of *Capoeta sieboldii* (Steindachner, 1864) and *Capoeta baliki* (Turan, Kottelat, Ekmekçi, İmamoğlu, 2006) From Tödürge Lake (Sivas, Turkey). *Acta Alimentaria*, 43(1), 170-181.



## Flora of Yassihöyük (Gordion) (Polatlı/Ankara/Turkey)

İnci ÇELİK GÜNDOĞMUŞ<sup>\*1</sup>, Murat EKİCİ<sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0002-4870-4483; ORCID: 0000-0002-3402-177X

<sup>1</sup> University of Gazi, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

### Abstract

The study area is located about 17 km northwest of Polatlı province, west of Ankara. 590 plant specimens were collected from the area between March 2011-February 2013. Identification of the total specimens revealed the presence of 290 taxa belonging to 180 genera in 42 families. The number of endemic taxa is 38 (13.10%). The distribution ratios of the taxa into the phytogeographical regions are as follows: Irano-Turanian 79 (27.24%); Mediterranean 14 (4.82%); Euro-Siberian 5 (1.72%) and widely distributed are 192 (66.20%).

**Keywords:** flora, Yassihöyük, Gordion, Polatlı, Ankara

----- \* -----

### Yassihöyük (Gordion) florası (Polatlı/Ankara)

### Özet

Araştırma alanı, Ankara ilinin batısındaki Polatlı ilçesinin yaklaşık 17 km kuzeybatısında yer almaktadır. 2011- 2013 yılları arasında çalışma alanından toplanan bitki örneklerinin değerlendirilmesi sonucu 42 familya ve 180 cinse ait, 290 tür ve türaltı takson tespit edilmiştir. 38 takson endemik olup endemizm oranı %13.10'dur. Taksonların fitocoğrafik bölgelere göre dağılımı ise şöyledir: 79'u İran-Turan Elementi (%27.24); 14'ü Akdeniz Elementi (%4.82); 5'i Avrupa-Sibirya Elementi (%1.72); geniş yayılışlılar ile fitocoğrafik bölgesine karar verilemeyenler ise 192 (%66.20)' dir.

**Anahtar kelimeler:** flora, Yassihöyük, Gordion, Polatlı, Ankara

### 1. Giriş

#### 1.1. Çalışmanın Amacı

Bu çalışma ile Ankara ili, Polatlı ilçesinde bulunan Yassihöyük bölgesinin florasını belirlemek, yakın bölgelerde yapılmış olan çalışmalarla benzerliklerini ve farklılıklarını tespit etmek, Ankara ilinde yapılacak olan bundan sonraki floristik ve korolojik çalışmalara veri sağlamak ve en önemlisi Türkiye Biyoçeşitliliğine katkı sağlamaktır.

#### 1.2. Çalışma Alanının Coğrafi Konumu ve Özellikleri

Araştırma yapılan alan; Ankara ilinin Polatlı ilçesi sınırları içerisinde olan coğrafi konumu 31° 58'18" ve 32° 00' 27" doğu meridyenleri; 39° 41' 24" ve 39° 38' 48" kuzey paralelleri arasındadır. Alan, Türkiye Florası'ndaki grid sisteminde B4 karesi içindedir [1]. Arazi çalışması yapılan yerler; Midas Tümülüsü ve Höyük çevresi (Kral Midas'ın mezarının bulunduğu müze) 706-745 m, İkizhöyük 762 m, Yassihöyük 680 m, Kazıalanı 682-686 m, Kızlarkayası 755-800 m ve Kiranharmanı (Köseler yolu) 750 m olmak üzere farklı yüksekliklerde noktalar bulunmaktadır. Araştırma

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905067005926; Fax.: +905067005926; E-mail: celik.inci87@gmail.com

alanına ulaşım Ankara - Eskişehir yolu ile yapılmaktadır. Çalışma alanımız yerleşim yeri olarak Çekirdeksiz ve Köşeler köyüne yakındır (Şekil 1).

### 1.3. Jeolojik Yapı ve Toprak Özellikleri

Orta Anadolu Neojen Havzalarından; Polatlı-Sivrihisar havzasının Yukarı Sakarya kesiminde, Miyosen sedimantasyonuna ait geç safha ürünleri ile yaygın Pliyosen istifleri çalışma alanında bulunmaktadır. Miyosen çökellerinin büyük bir bölümü; Pliyosen görsel çökelleri ile örtülü olan son derece sınırlı alandaki Yassihöyük köyünde mostra vermektedir. Çalışma kapsamında incelenmiş olan alanda; Kuvaterner yaşlı alüvyal çökeller, çoğunluğu kil-silt türü ince malzemeden oluşan kum ve serbest çakıl içermektedir. Gözlemlenen bölgede ana drenaj sisteminin gelişimi ve Sakarya nehrinin doğuş zamanı olarak Pleyistosenin başı ifade edilmektedir. Sakarya nehrinin kenarları bataklıktır. Günümüzde taşkın ovalarında gelişen bataklık alanları büyük ölçüde kurutulmuştur. Buradaki çökellere baktığımızda ise bol organik maddeli, siyah renkli, siltli - killi bataklık çamurları şeklinde görülmektedir [2] (Şekil 2). Çalışma alanı olan Yassihöyük ve çevresindeki toprak grubu, kahverengi toprak ve Sakarya kenarına yakın bölgelerde ise alüvyal topraklardır [3] (Şekil 3).

### 1-4. İklim

Polatlı, Sivrihisar ve Ankara istasyonları olarak “yarı kurak, alt, çok soğuk, Akdeniz” biyoiklim katına girmektedirler. Rasat sonuçlarına bakıldığında ise alanın çevresindeki toplam en yüksek yıllık yağış 409.1 mm ile Sivrihisar’da daha sonra sırasıyla Ankara’da 389.1 mm ve Polatlı’da 356.4 mm görülmektedir [4]. Her üç istasyonun yağış rejimi (IKSY) ve Doğu Akdeniz yağış rejimi 2. tipindedir. Ortalama sıcaklıklar sırasıyla Ankara’da 11.7 °C, Polatlı’da 11.4 °C ve Sivrihisar’da 11.2 °C olup, Temmuz ayında ölçülmüştür. Ortalama düşük sıcaklıklar sırasıyla Polatlı’da -3.7 °C, Ankara’da -3.5 °C, Sivrihisar’da -3.4 °C olup Ocak ayında ölçülmüştür. Ortalama yüksek sıcaklıklar ise sırasıyla Ankara ve Polatlı’da 30 °C, Sivrihisar’da 28.6 °C olup Temmuz ayında ölçülmüştür [5]. Sıcaklık ve yağış verileri ışığında çizilen iklim diyagramları Şekil 4 de verilmiştir.

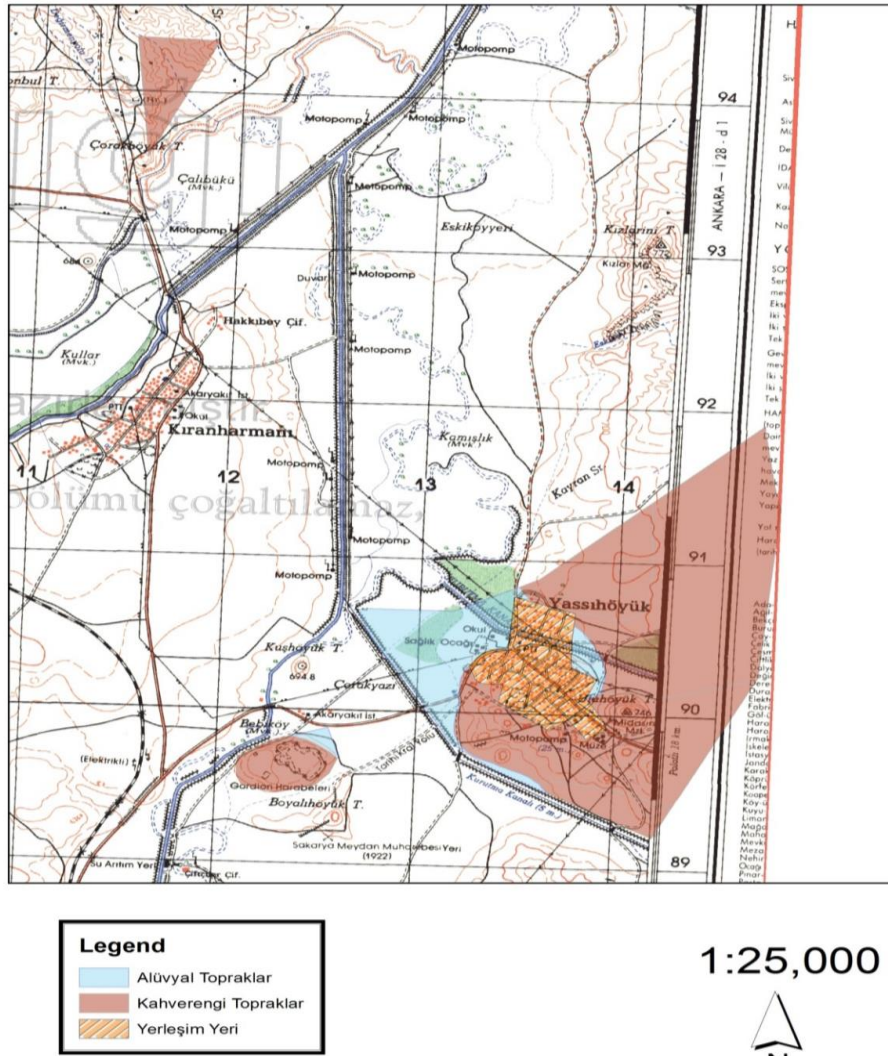


Şekil 1. Araştırma alanının genel haritası



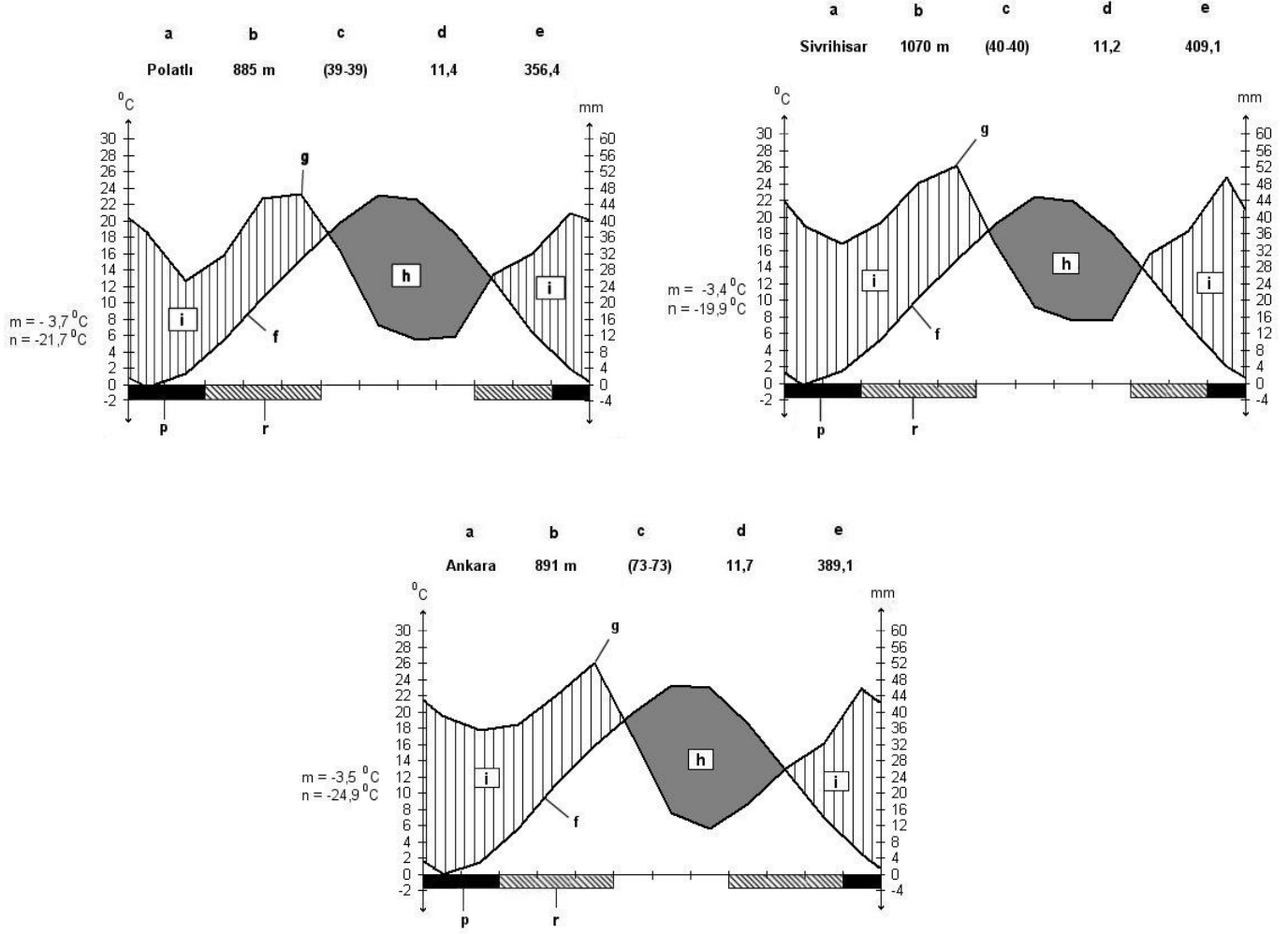


Şekil 2. Çalışma yapılan alanın jeolojik haritası



Şekil 3. İncelenen alanın büyük toprak grupları (1:25,000)





Şekil 4. (a) Polatlı , (b) Sivrihisar ve (c) Ankara istasyonlarına ait iklim diyagramları

- |  |  |
|--|--|
| a. Meteoroloji istasyonu                   | h. Kurak mevsim                                    |
| b. Meteoroloji istasyonunun yüksekliği (m) | i. Nemli mevsim                                    |
| c. Sıcaklık ve yağış rasat yılı            | m. En soğuk ayın en düşük sıcaklık ortalaması (°C) |
| d. Ortalama yıllık sıcaklık (°C)           | n. Mutlak minimum sıcaklık (°C)                    |
| e. Ortalama yıllık yağış (mm)              | p. Mutlak donlu aylar                              |
| f. Sıcaklık eğrisi                         | r. Muhtemel donlu aylar                            |

## 2. Materyal ve yöntem

Çalışma alanına 29.03.2011 ve 09.02.2013 yılları arasında farklı zamanlarda, toplam 14 arazi çalışması yapılarak 590 adet bitki örneği inceleme yapmak amaçlı toplanmıştır. Toplanan örnekler herbaryum tekniklerine uygun olmak şartıyla hazırlanarak GAZİ herbaryumuna yerleştirilmiştir. Örneklerin adlandırılmasında “Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vols. 1-9” [1], “Flora of Turkey and the East Aegean Islands (ek. 1) Cilt 10” [6], “Flora of Turkey and the East Aegean Islands (ek. 2) Cilt 11” [7], “Flora Europaeae Cilt 1-5” [8], “Flora of Iraq Cilt 4” [9], “Flora Iranica; *Scrophulariaceae* I” [10] flora kaynaklarından faydalanılmıştır. Morfolojik terimlerin öğrenilmesinde açısından değerlendirilen eserler ise “İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu” [11] ve “Botanical Latin” [12] kullanılmıştır. Bitkilerin sinonimlerinin kontrol edilmesinde “Med-Checklist” [13] ve “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)” [14] kitapları incelenmiştir. Otör isimlerine bakıldığında, doğru olmak şartıyla standart yazılabilmesi için Brummitt ve Powel’in yazdığı “Author of Plant Names” eseri incelenmiştir [15].

Araştırma alanının genel haritası “Google Earth” programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma alanının jeolojik bilgileri için Porsuk formasyonunu içeren yüksek lisans tezinden yararlanılmıştır [2]. İnceleme yapılan alanının toprak yapısıyla ilgili bulguları Mülga KHGM ‘nin Ankara İli İl Envanter Raporu’ndan faydalanılmıştır [3]. Polatlı, Sivrihisar ve Ankara’nın meteorolojik verileri hakkında Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü’nden yardım alınmıştır [4]. İklim verilerinin yorumlanmasında ise “İklim ve Biyoiklim” kaynak olarak kullanılmıştır [5].

Endemik bitkilerin, tehlike kategorilerinin yazılmasında ise ‘‘Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı’’ incelenmiştir [16]. Taksonların tehlike kategorilerine bakıldığında IUCN 2001 kriterlerine göre yeniden düzenleme yapılmıştır [17]. Floristik liste sırası Flora of Turkey göre hazırlanmıştır. Taksonların familya ve cins içerisindeki düzenine bakıldığında APG III ve Türkiye Bitkileri Listesindeki sıralama takip edilmiştir. Bitki numune toplama istasyonları belirtilirken aşağıdaki lokalite numaraları kullanılmıştır. Sonrasında taksonların, endemik olma durumlarına ve fitocoğrafik bölgelerine bakılarak not alınmıştır.

Çalışma alanının tamamı B4: Ankara ili Polatlı ilçesinin sınırları içerisinde olduğundan, tekrardan kaçınılmak için bitki toplama istasyonları kısmında yer verilmemiştir. Lokalite bilgileri sırasıyla taksonun toplandığı istasyon, habitat, yükseklik, toplama tarihi, toplayıcı numarası olarak verilmiştir. Endemik olup olmadığına göre incelenerek endemikse tehlike kategorisi ve daha sonra da belirli ise fitocoğrafik bölge elementi verilmiştir. Yeni olan taksonların belirlenmesinde ise B4 karesi için taranan kaynak J. Donner’in Distribution of Maps to P.H. Davis ‘Flora of Turkey 1-10’ eseridir [18].

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>	<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>	<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
Akd.	Akdeniz	NT	Tehlike altına girebilir (Near Threatened)	°C	Santigrat derece
Avr.-Sib.	Avrupa-Sibirya	LC	En az endişe verici (Least Concern)	cm	Santimetre
D. Akd.	Doğu Akdeniz	VU	Zarar görebilir (Vulnerable)	m	Metre
Sin.	Sinonim			mm	Milimetre
End.	Endemik				
subsp.	Alttür				
Ir.-Tur.	Iran-Turan				
var.	Varyete				

### Bitki Numunelerinin Toplandığı İstasyonlar

1. Yassihöyük
2. Kızlarkayası
3. Kiranharmanı

4. Kazılamı
5. İkişhöyük
6. Midas Tümülüsü ve Höyük çevresi

### 3. Bulgular

#### ANGIOSPERMAE

#### RANUNCULACEAE

*Nigella arvensis* L. var. *glauca* Boiss., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1156.

*N. segetalis* Bieb., 1, yol kenarı, step, 680m, 03.06.2012, İ. Çelik 1531a.

*N. nigellastrum* (L.) Willk., 6, step, 745m, 13.08.2011, İ. Çelik 1203. 2, step, 752 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1220. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1481.

*Consolida thirkeana* (Boiss.) Schröd., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1143; ibid., 15.10.2011, İ. Çelik 1227. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1197.

*C. orientalis* (J.Gay) Schrödinger, 1, yol kenarı, step, 680 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1316; ibid., 03.06.2012, İ. Çelik 1537. 2, step, 752 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1462. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1495.

*C. regalis* S.F.Gray subsp. *paniculata* (Host) Soó var. *paniculata*, 1, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1223. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1494.

*C. raveyi* (Boiss.) Schröd., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1148. 2, step, 752m, 03.06.2012, İ. Çelik 1463. 2, step, 752 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1463. Endemik, Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.

*C. hellespontica* (Boiss.) Chater., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1149.

*Adonis aestivalis* L. subsp. *aestivalis*, 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1242. 2, step, 752 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1251; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1331. 5, step, 762 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1309. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1489.

*A. flammea* Jacq., 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1033.

*Ranunculus argyreus* Boiss., 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1241.

*R. isthmicus* Boiss. subsp. *stepporum* P. H. Davis, 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1028.

*Ceratocephala falcatus* (L.) Pers., 3, step, 685 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1010; ibid., 755 m, İ. Çelik 1011.

#### PAPAVERACEAE

*Glaucium corniculatum* (L.) Rudolph subsp. *refractum* (Nábelek) Mory, 2, step, 752 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1477. Ir.-Tur. element.

*G. grandiflorum* Boiss & A. Huet var. *grandiflorum*, 1, yol kenarı, step, 680 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1113.

*Papaver rhoeas* L., 1, step, 680 m, 23.05.2012, İ. Çelik 1546.

*P. dubium* L., 5, step, 762 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1277. 1, yol kenarı, step, 680 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1415; ibid., 03.06.2012, İ. Çelik 1538. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1512; ibid., İ. Çelik 1521.

*Hypecoum procumbens* L., 3, step, 685 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1003. 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1044. 6, step, 745 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1268. 5, step, 762 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1307; ibid., İ. Çelik 1312. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1484. Akdeniz element.

*Hypecoum imberbe* Sibth.&Sm., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1547.

*Fumaria officinalis* L., 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1496.

#### BRASSICACEAE (CRUCIFERAE)

*Brassica elongata* Ehrh., 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1548.

*Sinapis arvensis* L., 2, step, 752 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1378; ibid., İ. Çelik 1424. 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1533.

*Hirschfeldia incana* (L.) Lag.-Foss., 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1549.

*Crambe tataria* Sebeök var. *tataria* 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1550.

*Lepidium perfoliatum* L., 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1551.

*Cardaria draba* (L.) Desv. subsp. *draba* 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1048. 1, step, 685 m, 22.05.2012, İ. Çelik 1092; *ibid.*, 28.04.2012, İ. Çelik 1270. 5, step, 762 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1276. 1, yol kenarı, step, 680 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1413. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1500. 6, step, 745 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1265.

*Isatis glauca* subsp. *glauca* Aucher ex Boiss., 1, yol kenarı, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1552. Ir.-Tur. element.

*Thlaspi perfoliatum* L., 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1019.

*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., 6, step, 745 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1264. 1, yol kenarı, step, 680 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1416.

*Malcolmia africana* L., 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1001. 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1047.

*Alyssum linifolium* Stephan ex Willd. var. *linifolium* 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1018. 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1049; *ibid.*, 03.04.2012, İ. Çelik 1234; *ibid.*, 28.04.2012, İ. Çelik 1262; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1440, İ. Çelik 1448.

*A. desertorum* Stapf. var. *desertorum* 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1006.

*A. minus* (L.) Rothm. var. *micranthum* (Meyer) Dudley, 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1553.

*A. sibiricum* Willd., 1, step, 680 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1090. 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1105. 2, step, 755 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1218; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1418. 4, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1515.

*A. condensatum* Boiss. & Hausskn. subsp. *condensatum* 1, step, 680 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1554.

*A. murale* Waldst. & Kit. var. *murale* 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1017. 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1031. 1, step, 680 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1240; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1292.

*Erophila verna* (L.) Chevall. subsp. *verna* 3, step, 685-750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1002; *ibid.*, İ. Çelik 1005, İ. Çelik 1015.

*Matthiola longipetala* (Vent.) DC. subsp. *bicornis* (Sibth. & Sm.) P.W.Ball, 2, step, 677-682 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1029; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1476.

*Erysimum lycanicum* (Hand.-Mazz.) Hub.-Mor., 2, step, 750 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1250. 5, step, 760 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1402, İ. Çelik 1444, İ. Çelik 1449. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*E. smyrnaeum* Boiss & Balansa, 2, step, 752 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1343.

*Sisymbrium altissimum* L., 5, step, 760 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1304, İ. Çelik 1306. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1518.

*S. orientale* L., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1556.

*S. loeselii* L., 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1063. 1, step, 680 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1317. 5, step, 760 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1394. 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1505.

*Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl subsp. *sophia* 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1062. 1, step, 680 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1267; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1296. 5, step, 760 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1396. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1506.

*Arabidopsis parvula* (Schrenk) Schulz, 2, step, 682 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1050.

*Camelina rumelica* Vel., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1513.

*C. hispida* Boiss. var. *grandiflora* (Boiss.) Hedge, 1, yol kenarı, step, 680 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1273. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.

**CAPPARACEAE**

*Capparis spinosa* L. var. *spinosa* 2, step, 752 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1190; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1445.

**RESEDACEAE*****Reseda***

*lutea* L. var. *lutea* 2, step, 752 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1348. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1478, İ. Çelik 1488, İ. Çelik 1490.

*R. luteola* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1509.

**CISTACEAE**

*Helianthemum ledifolium* (L.) Miller subsp. *lycaonicum* Coode & Cullen, 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1104.

*H. salicifolium* (L.) Miller, 3, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1557.

*Fumana procumbens* (Dun.) Gren. & Godr., 2, step, 752 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1347; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1431.

*F. aciphylla* Boiss., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1557. Ir.-Tur. element.

**VIOLACEAE**

*Viola occulta* Lehm. 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1014.

**POLYGALACEAE**

*Polygala papilionacea* Boiss., 1, yol kenarı, step, 680 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1120.

**CARYOPHYLLACEAE**

*Minuartia hirsuta* (M.Bieb.) Hand.-Mazz. subsp. *falcata* (Griseb.) Matff., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1288. 2, step, 752 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1428.

*M. hybrida* (Vill.) Schischk. subsp. *hybrida* 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1039.

*Spergularia media* (L.) C.Presl, 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1136, İ. Çelik 1151; *ibid.*, 15.10.2011, İ. Çelik 1231.

*Holosteum marginatum* C.A.Meyer, 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1072.

*H. umbellatum* L. var. *umbellatum* 3, step, 755 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1016.

*Dianthus zonatus* Fenzl. var. *zonatus* 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1099.

*D. zonatus* Fenzl. var. *aristatus* (Boiss.) Reeve, 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1135, İ. Çelik 1137. 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1469, İ. Çelik 1470. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1480.

*Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* 1, step, 685 m, 22.05.2012, İ. Çelik 1088; *ibid.*, 13.08.2011, İ. Çelik 1188; *ibid.*, 15.10.2011, İ. Çelik 1224; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1287.

*G. eriocalyx* Boiss., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1132. 5, step, 760 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1160, İ. Çelik 1187. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1514.

*Silene chlorifolia* Sm., 1, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1558. Ir.-Tur. element.

*S. cappadocica* Boiss. & Heldr, 2, step, 750 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1217. Ir.-Tur. element.

*S. supina* Bieb. subsp. *pruinosa* (Boiss.) Chowdh. 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1465.

*S. subconica* Friv., 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1188. 5, step, 755 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1305.

**ILLECEBRACEAE**

*Herniaria incana* Lam., 4, step, 686 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1520.

*Paronychia kurdica* Boiss. subsp. *kurdica* var. *kurdica* 1, step, 680 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1559.

*P.amani* Chaudhri var. *amani* 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1140. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.  
*P. condensata* Chaudhri, 5, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1170; ibid. 26.05.2012, İ. Çelik 1407.

#### CHENOPODIACEAE

*Chenopodium botrys* L., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1560.

*C. album* L. subsp. *album* var. *album* 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1458.

*Krascheninnikovia ceratoides* (L.) Güldenst., 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1199. 2, step, 750 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1222.

*Salsola kali* subsp. *ruthenica* (Iljin) Soó, 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1473. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1487.

*S. laricina* Pall., 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1204. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1439.

*Noaea mucronata* (Forssk.) Aschers.&Schweinf. subsp. *mucronata* 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1201. 1, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1229.

#### AMARANTHACEAE

*Amaranthus retroflexus* L., 2, step, 750 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1458b.

#### FRANKENIACEAE

*Frankenia hirsuta* L., 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1130, İ. Çelik 1150; ibid., 15.10.2011, İ. Çelik 1232. 5, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1183. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1519.

#### MALVACEAE

*Malva neglecta* Wallr., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1498.

#### LINACEAE

*Linum aretioides* Boiss., 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1114. Endemik, Tehlike kategorisi: VU.

*L. tenuifolium* L., 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1377.

*L. austriacum* L. subsp. *austriacum* 2, step, 750 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1068.

*L. austriacum* L. subsp. *glaucescens* (Boiss.) Davis, 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1194. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1438.

#### GERANIACEAE

*Geranium tuberosum* L. subsp. *tuberosum* 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1030, İ. Çelik 1054. 1, yol kenarı, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1254.

*Erodium ciconium* (L.) L' Hérit., 5, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1314. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1385.

*E. cicutarium* (L.) L' Hérit. subsp. *cicutarium* 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1034; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1355. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1525.

*E. acaule* (L.) Becherer & Thell., 3, step, 685 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1004. Akdeniz element.

#### ZYGOPHYLLACEAE

*Zygophyllum fabago* L., 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1275. Ir.-Tur. element.

*Tribulus terrestris* L., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1456.

*Peganum harmala* L., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1152; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1369, İ. Çelik 1392. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1208. 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1280.

#### RUTACEAE

*Haplophyllum myrtifolium* Boiss., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1186. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1290. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1360; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 142, İ. Çelik 1435. Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.

#### FABACEAE (LEGUMINOSAE)

*Genista sessilifolia* DC., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1337; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1434. Ir.-Tur.element.

*Astragalus asterias* Stev. ex Ledeb., 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1035. Ir.-Tur.element.

*A. oxyglottis* Stev., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1081, İ. Çelik 1085.

*A. hamosus* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1508.

*A. wiedemannianus* Fischer, 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1107. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1145. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1162. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1375; ibid., 03.06.2012, İ. Çelik 1452. Endemik, Ir.-Tur. element.

*A. lydius* Boiss., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1075, İ. Çelik 1091, İ. Çelik 1080; ibid., 02.07.2011, İ. Çelik 1128; 13.05.2012, İ. Çelik 1289. 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1110. 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1281. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1322; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1374, İ. Çelik 1442; ibid., 03.06.2012, İ. Çelik 1455, İ. Çelik 1462. Endemik, Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.

*A. setulosus* Boiss. & Bal., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1459. Endemik, Ir.-Tur. element.

*A. karamasicus* Boiss. & Bal., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1027, İ. Çelik 1040. 5, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1395, İ. Çelik 1403. Endemik, Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.

*A. elongatus* Willd. subsp. *elongatus* 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1079. 1, yol kenarı, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1246. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1335.

*A. spruneri* Boiss., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1023. 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1295.

*Vicia cracca* L. subsp. *stenophylla* Velen., 1, yol kenarı, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1319.

*V. peregrina* L., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1071.

*Ononis spinosa* L. subsp. *leiosperma* (Boiss.) Širj., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1499.

*Trifolium tomentosum* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1527.

*T. globosum* L., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1024.

*Melilotus officinalis* (L.) Desr., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1497.

*Trigonella fischeriana* Ser., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1036. 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1308; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1390. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1380. Ir.-Tur.element.

*T. monantha* C.A.Meyer subsp. *monantha* 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1311. Ir.-Tur. element.

*T. coerulescens* (Bieb.) Hal 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1501. Ir.-Tur. element.

*Medicago radiata* L., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1561. Ir.-Tur. element.

*M. x varia* Martyn, 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1535.

*M. minima* (L.) Bart. var. *minima* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1562.

*M. rigidula* (L.) All. var. *rigidula* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1502.

*Lotus corniculatus* L. var. *corniculatus* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1524. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1529.  
*Coronilla varia* L. subsp. *varia* 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1563.  
*Hedysarum varium* Willd., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1129. Ir.-Tur element.  
*H. cappadocium* Boiss., 2, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1064; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1430.  
*Onobrychis armena* Boiss. & Huet, 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1094; *ibid.*, 02.07.2011, İ. Çelik 1122; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1366. 5, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1393. 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1460. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.  
*O. oxyodonta* Boiss. & Huet. subsp. *armena* 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1163; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1406. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1511.  
*O. argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1073. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1510. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.  
*Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) Desv., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1507. Ir.-Tur. element.

#### UMBELLIFERAE (APIACEAE)

*Eryngium bithynicum* Boiss., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1154; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1297. 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1479. Endemik, Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.  
*E. campestre* L. var. *virens* Link, 2, step, 750 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1211; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1471.  
*Echinophora tournefortii* Jaub. & Spach, 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1174. 2, step, 750 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1212. Ir.-Tur. element.  
*Scandix australis* L. subsp. *grandiflora* (L.)Thell., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1086.  
*Bifora radians* M. Bieb, 2, step, 750 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1323.  
*Conium maculatum* L., 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1530.  
*Bupleurum boissieri* Post, 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1134.  
*Peucedanum palimbioides* Boiss., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1177. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.  
*Malabaila secacul* (Mill.) Boiss. subsp. *secacul* 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1089.  
*Torilis leptophylla* (L.) Reichb., 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1564.  
*Astrodaucus orientalis* (L.) Drude, 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1565. Ir.-Tur. element.  
*Caucalis platycarpus* L., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1329.  
*Turgenia latifolia* (L.) Hoffm., 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1384; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1463. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1532.  
*Daucus carota* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1504. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1534.  
*Artemisia squamata* L., 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1192.

#### VALERIANACEAE

*Valeriana dioscoridis* Sm., 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1566. Akdeniz element.  
*Valerianella coronata* (L.) DC., 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1310; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1391. 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1389. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1499, İ. Çelik 1503.  
*V. vesicaria* (L.) Moench, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1041.

#### DIPSACEAE

*Scabiosa argentea* L., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1126. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1165, İ. Çelik 1169, İ. Çelik 1175. 2, step, 750 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1221; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1467. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1482.  
*S. rotata* Bieb., 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1106. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1147; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1364. 5, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1397, İ. Çelik 1398. 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1432. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1492. Ir.-Tur. element.  
*Pterocephalus plumosus* (L.) Coulter, 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1074.

#### ASTERACEAE (COMPOSITAE)

*Xanthium strumarium* L. subsp. *cavanillesii* (Schouw) D. Löve et P. Bansen, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1475a.  
*X. spinosum* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1510.  
*Helichrysum arenarium* (L.) Moench subsp. *aucheri* (Boiss.) P.H.Davis & Kupicha, 1, yol kenarı, step 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1115. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.  
*Filago pyramidata* L., 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1567.  
*Logfia arvensis* (L.) Holub, 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1181. 1, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1370. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1485.  
*Senecio vernalis* Waldst. & Kit., 6, step, 745 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1022; *ibid.*, 28.04.2012, İ. Çelik 1256. 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1056; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1425. 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1258. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1493.  
*Anthemis cretica* L. subsp. *anatolica* (Boiss.) Grierson, 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1427.  
*A. cretica* L. subsp. *umblicata* (Boiss. & Huet) Grierson, 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1330.  
*Cota tinctoria* L. subsp. *tinctoria* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1516.  
*C. austriaca* Jacq., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1491. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1536.  
*Achillea phrygia* Boiss. & Ball., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1182. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1483. 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1076. 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1410. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.  
*A. aleppica* DC. subsp. *zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1286. 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1315. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1351; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1441; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1457. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.  
*A. ketenoglui* H.Duman, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1055. 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1247. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: CR.

*Tripleurospermum oreades* (Boiss.) Rech. fil. var. *tchihatchewii* (Boiss.) E. Hossain, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1045.

*T. callosum* (Boiss. & Heldr.) E. Hossain, 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1243. 6, step, 745 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1255. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1528. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.

*Artemisia campestris* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1523.

*A. santonicum* L., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1125. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1205.

*A. taurica* Willd., 1, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1225.

*Gundelia tournefortii* L. var. *tournefortii* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1522.

*Cousinia halysensis* Hub.-Mor., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1153. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1166. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: NT.

*C. stapfiana* Freyn & Sint., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1142. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Onopordum acanthium* L., 1, step, 685 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1191. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1321.

*Picnomon acarna* (L.) Cass., 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1568. Akdeniz element.

*Carduus nutans* L. subsp. *nutans sensu lato* 2, step, 752 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1061: ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1361. 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1084; ibid., 28.04.2012, İ. Çelik 1257.

*C. pycnocephalus* L. subsp. *albidus* (M. Bieb.) Kazmi, 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1279. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1489. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1324.

*Jurinea pontica* Hausskn. & Freyn ex Hausskn., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1164. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Centaurea coronopifolia* Lam., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1172. Ir.-Tur. element

*C. virgata* Lam., 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1117. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1158. 1, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1226. 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1404. Ir.-Tur. element.

*C. solstitialis* L. subsp. *solstitialis* 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1097.

*C. iberica* Trev. Ex Sprengel, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1569. Akdeniz element.

*C. urvillei* DC. subsp. *stepposa* Wagenitz, 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1111. Ir.-Tur. element.

*C. pseudoreflexa* Hayek, 1, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1371; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1291. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1341. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1486. Ir.-Tur. element.

*C. depressa* Bieb., 1, yol kenarı, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1070. 5, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1405.

*Crupina crupinastrum* (Moris) Vis., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1144.

*Cnicus benedictus* L. var. *benedictus* 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1570.

*Carthamus lanatus* L., 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1571.

*Xeranthemum annuum* L., 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1098. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1124. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1176. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1202.

*Echinops orientalis* Trautv., 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1214. Ir.-Tur. element.

*Scolymus hispanicus* L., 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1185. Akdeniz element.

*Cichorium intybus* L., 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1572.

*Koelipinia linearis* Pallas, 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1521. Ir.-Tur. element.

*Scorzonera cana* (C.A.Meyer) Hoffm. var. *cana* 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1383, İ. Çelik 1450.

*S. mollis* Bieb. subsp. *szowitzii* (DC.) Chamberlain, 2, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1252; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1354. Ir.-Tur. element.

*Tragopogon longirostris* Bisch. ex Schultz Bip. var. *longirostris* 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1573.

*T. dubius* Scop., 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1263; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1283, İ. Çelik 1301.

*Sonchus asper* (L.) Hill. subsp. *glaucescens* (Jordan) Ball, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1464.

*Chondrilla juncea* L. var. *juncea* 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1195. 2, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1216.

*Crepis macropus* Boiss. & Heldr., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1083. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*C. foetida* L. subsp. *rhoeadifolia* (M. Bieb.) Çelak, 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1119.

*C. sancta* (L.) Bornm., 1, step, 685 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1293. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1327; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1382, İ. Çelik 1446.

*Taraxacum farinosum* Hausskn. & Bornm., 1, step, 685 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1189. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

#### CAMPANULACEAE

*Asyneuma lobelioides* (Willd.) Hand.-Mazz., 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1433; ibid., 03.06.2012, İ. Çelik 1472. Ir.-Tur. element.

#### APOCYNACEAE

*Vinca herbacea* Waldst. & Kit., 2, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1244.

#### CONVOLVULACEAE

*Convolvulus lineatus* L., 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1447. Ir.-Tur. element.

*C. arvensis* L., 5, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1082. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1531b.

#### CUSCUTACEAE

*Cuscuta campestris* Yuncker, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1475b.

*C. palaestina* Boiss. subsp. *balanse* (Yuncker) Plitm., 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1108.

#### BORAGINACEAE

*Heliotropium europaeum* L., 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1200, İ. Çelik 1209. 1, yol kenarı, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1409. Akdeniz element.

*Lappula barbata* (Bieb.) Gürke, 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1526. Ir.-Tur. element.

*Rochelia disperma* (L.fil.) C.Koch var. *disperma* 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1037. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1530.

*Myosotis lithospermifolia* (Willd.) Hornem., 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1338.

*Buglossoides arvensis* (L.) Johnston, 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1009. 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1058. 5, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1313.

*Echium italicum* L., 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1574.

*Moltkia coerulea* (Willd.) Lehm., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1026. 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1245. 5,



step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1261. 2, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1274; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1325. 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1300. Ir.-Tur.element.

*M. aurea* Boiss., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1575. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Onosma isauricum* Boiss. & Heldr., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1576. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.

*Anchusa leptophylla* Roemer & Schultes subsp. *leptophylla* 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1577.

*A. azurea* Miller var. *azurea* 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1032.

*Nonea caspica* (Willd.) G.Don, 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1013. Ir.-Tur. element.

#### SOLANACEAE

*Hyoscyamus reticulatus* L., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1515. Ir.-Tur. element.

#### SCROPHULARIACEAE

*Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb. 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1155. Endemik, Tehlike kategorisi: LC.

*Veronica grisebachii* S.M.Walters, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1046, İ. Çelik 1057. Akdeniz element.

*V. persica* Poiret, 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1008.

*V. multifida* L., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1302. 2, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1336, İ. Çelik 1356; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1387, İ. Çelik 1436. Ir.-Tur.element.

*V. hederifolia* L., 1, yol kenarı, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1408.

*Bungea trifida* (Vahl) C.A.Meyer, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1474. Ir.-Tur. element.

#### OROBANCHACEAE

*Orobanche purpurea* Jacq., 1, yol kenarı, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1095. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1146. 2, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1379.

#### GLOBULARIACEAE

*Globularia orientalis* L. 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1100. Ir.-Tur. element.

#### LAMIACEAE (LABIATAE)

*Ajuga chamaepitys* (L.) Schreb. subsp. *chia* (Schreb) Arcang., 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1020. 1, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1365.

*Teucrium parviflorum* Schreber, 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1578. Ir.-Tur. element.

*T. polium* L. subsp. *polium* 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1101. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1127. 1, yol kenarı, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1180. 5, step, 685 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1184. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1210. 2, step, 685 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1213; *ibid.*, 15.10.2011, İ. Çelik 1219; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1426.

*Scutellaria orientalis* L. subsp. *pinnatifida* Edmondson, 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1078; *ibid.*, 28.04.2012, İ. Çelik 1239; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1299. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*S. yildirimlii* M.Çiçek&Yaprak, 5, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1168; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1303. 2, step, 685 m, 15.10.2011, İ. Çelik 1215; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1352; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1381. Phytotaxa dergisinde yayındadır.

*Phlomis pungens* Willd. var. *laxiflora* Velen, 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1455.

*P. armeniaca* Willd., 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1579. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Lamium amplexicaule* L., 3, step, 750 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1007, İ. Çelik 1012. 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1043. Avrupa-Sibirya element.

*Wiedemannia orientalis* Fisch.&Mey., 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1042; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1326. 5, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1278. 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1517. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*W. multifida* (L.) Benth., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1580. Ir.-Tur. element.

*Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. subsp. *oligodon* (Boiss) Seybold, 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1093; *ibid.*, 15.10.2011, İ. Çelik 1228. Endemik, Ir.-Tur.element, Tehlike kategorisi: LC.

*M.trachyticum* Boiss., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1285. 5, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1401. Endemik, Ir.-Tur.element,Tehlike kategorisi: NT.

*Stachys iberica* M. Bieb subsp. *iberica* var. *densipilosa* Bhattacharjee, 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1112. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Acinos rotundifolius* Pers, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1038.

*Thymus sipyleus* Boiss subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas, 2, step, 685 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1025; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1466. 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1103. 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1133.

*T. leucostamus* Hausskn. & Velen. var. *leucostamus* 2, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1581. Endemik, Tehlike kategorisi: NT.

*Ziziphora taurica* Bieb. subsp. *taurica* 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1284; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1373. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1328; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1386; *ibid.*, 03.06.2012, İ. Çelik 1451, İ. Çelik 1468. Ir.-Tur.element.

*Salvia absconditiflora* (Montbret & Aucher ex Benth.) Greuter & Burdet, 2, step, 750 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1067. 5, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1400. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*S. aytachii* Vural & N. Adıgüzel, 2, step, 750 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1069; *ibid.*, 13.05.2012, İ. Çelik 1333; *ibid.*, 26.05.2012, İ. Çelik 1419. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: EN.

*S. syriaca* L., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1453. Ir.-Tur. element.

*S. sclarea* L., 5, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1399.

*S. virgata* Jacq., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1350. Ir.-Tur. element.

#### PLUMBAGINACEAE

*Plumbago europaea* L., 2, step, 750 m, 16.05.2012, İ. Çelik 1582. Avrupa-Sibirya element.

*Acantholimon acerosum* (Willd.) Boiss. subsp. *acerosum* var. *acerosum* 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1109. 5, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1178. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1193. Ir.-Tur.element.

#### PLANTAGINACEAE

*Plantago lanceolata* L., 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1583.

#### SANTALACEAE

*Thesium billardieri* Boiss., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1294. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1358. Ir.-Tur.element.

**EUPHORBIACEAE**

*Euphorbia helioscopia* L., 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1584.

*E. macroclada* L., 1, step, 685 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1087; ibid., 15.10.2011, İ. Çelik 1230. 6, step, 745 m, 13.08.2011, İ. Çelik 1207. 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1344; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1417. Ir.-Tur. element.

**RUBIACEAE**

*Asperula stricta* Boiss. subsp. *latibracteata* (Boiss.) Ehrend., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1332, İ. Çelik 1359; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1376, İ. Çelik 1411. 1, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1372. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Galium spurium* L. subsp. *spurium* 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1437. Avrupa-Sibirya element.

*Cruciata taurica* (Pall. ex Willd.) Ehrend., 2, step, 750 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1248, İ. Çelik 1269; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1339; ibid., 26.05.2012, İ. Çelik 1443. Ir.-Tur. element.

**MONOCOTYLEDONAE****LILIACEAE**

*Allium flavum* L. subsp. *tauricum* (Besser ex Reichb.) Stearn var. *tauricum* 5, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1171. Akdeniz element.

*A. pseudofleum* Vved., 2, step, 750 m, 03.04.2012, İ. Çelik 1461. Ir.-Tur.element.

*A. atroviolaceum* Boiss., 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1139.

*A. scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* (L.) Stearn, 1, yol kenarı, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1116. Akdeniz element.

*A. lycanicum* Siehe ex Hayek, 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1282.

*Ornithogalum oligophyllum* E.D.Clarke, 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1059; ibid., 20.04.2012, İ. Çelik 1253. 1, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1259.

*Muscari longipes* Boiss., 2, step, 750 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1066. Ir.-Tur. element.

*M. armeniacum* Leichntlin ex Baker, 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1060.

*Fritillaria fleischeriana* Steudel & Hochst. ex Schultes & Schultes fil.ü, 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1349. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: NT.

*Gagea villosa* (Bieb.) Parl var. *villosa* 6, step, 680 m, 29.03.2011, İ. Çelik 1021. 2, step, 750 m, 03.04.2012, İ. Çelik 1233, İ. Çelik 1235, İ. Çelik 1236, İ. Çelik 1238. 1, step, 685 m, 03.04.2012, İ. Çelik 1237. Akdeniz element.

*Colchicum triphyllum* G.Kunze, 1, step, 685 m, 09.02.2013, İ. Çelik 1540. 6, step, 680 m, 09.02.2013, İ. Çelik 1543, İ. Çelik 1544. Akdeniz element.

**IRIDACEAE**

*Crocus biflorus* Miller subsp. *crewei* (Hooker fil.) Mathew, 6, step, 680 m, 09.02.2013, İ. Çelik 1541, İ. Çelik 1542. Akdeniz element.

**4. Sonuçlar ve tartışma**

Araştırma alanı olarak seçilen Yassihöyük (Gordion) köyü ve çevresi; Ankara ilinin Polatlı sınırları içerisindeki, bitki coğrafyası açısından değerlendirildiğinde ise İran-Turan fitocoğrafik bölgesindedir [1]. Çalışılan alan, Akdeniz ikliminin yarı kurak alt çok soğuk biyoiklim katında görülmektedir. Yağış rejimi ise Doğu Akdeniz yağış rejiminin 2. tipine girmektedir. Çalışma alanında step vejetasyonu bulunmaktadır. Alanda kahverengi toprak ve alüvyal toprak hakimdir.

**CYPERACEAE**

*Carex panicea* L., 1, yol kenarı, step, 685 m, 28.04.2012, İ. Çelik 1272. Avrupa-Sibirya element.

**GRAMINEAE**

*Agropyron cristatum* (L.) Gaertner subsp. *pectinatum* (Bieb.) Tzvelev var. *pectinatum* 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1422.

*Elymus hispidus* (Opiz) Melderis subsp. *barbulatus* (Schur) Melderis, 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1585.

*Aegilops cylindrica* Host., 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1545. Ir.-Tur.element.

*A. umbellulata* Zhuk. subsp. *umbellata* 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1421. Ir.-Tur.element.

*A. triuncialis* L. subsp. *triuncialis* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1586.

*Triticum aestivum* L., 1, step, 685 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1298, İ. Çelik 1320.

*Hordeum murinum* L. subsp. *glaucum* (Steud.) Tzvelev, 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1052; ibid., 13.05.2012, İ. Çelik 1362.

*Bromus arvensis* L., 1, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1587. Ir.-Tur.element.

*B. tectorum* L., 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1053. 1, step, 685 m, 28.04.2011, İ. Çelik 1260. 5, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1414.

*B. japonicus* Thunb. subsp. *japonicus* 1, step, 685 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1141. 2, step, 750 m, 03.06.2012 İ. Çelik 1454.

*B. tomentellus* Boiss. subsp. *tomentellus* 5, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1345. 1, step, 685 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1368. Ir.-Tur. element.

*Avena barbata* Pott ex Link subsp. *barbata* 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1588. Akdeniz element.

*Koeleria cristata* (L.) Pers., 1, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1138. 5, step, 750 m, 24.07.2012, İ. Çelik 1161. Avrupa-Sibirya element.

*Phleum exaratum* Hochst. ex Griseb. subsp. *exaratum* 3, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1102. 1, step, 750 m, 02.07.2011, İ. Çelik 1123. 1, yol kenarı, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1539.

*Festuca valesiaca* Schleicher ex Gaudin, 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1589.

*F. callieri* (Hackel ex St.-Yues) F.Markgraf apud Hayek subsp. *zederbaueri* Markgr.-Dannenb., 2, step, 750 m, 13.05.2012, İ. Çelik 1346. Endemik, Ir.-Tur. element, Tehlike kategorisi: LC.

*Poa bulbosa* L., 2, step, 750 m, 30.04.2011, İ. Çelik 1051.

*Echinaria capitata* (L.) Desf., 5, step, 750 m, 22.05.2011, İ. Çelik 1096.

*Melica ciliata* L. subsp. *ciliata* 4, step, 685 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1412.

*Stipa pulcherrima* C.Koch subsp. *epilosa* (Martinovsky) Tzvelev, 2, step, 750 m, 24.07.2011, İ. Çelik 1167.

*Cynodon dactylon* (L.) Pers. var. *villosus* Regel, 2, step, 750 m, 03.06.2012, İ. Çelik 1590.

*Setaria viridis* (L.) P.Beauv., 2, step, 750 m, 26.05.2012, İ. Çelik 1431.

Alanda; Yassihöyük formasyonu, Kıranharmanı formasyonu, Midas Tümülüsü ve Höyük çevresi formasyonu, Kızılarkayası formasyonu, İkizhöyük formasyonu ve Kazialanı formasyonları olmak üzere 6 litolojik birim bulunmaktadır.

2011-2013 yılları arasında vejetasyon dönemlerindeki arazi çalışmalarında toplanan 590 bitki numunesi incelenerek herbaryum materyali haline getirilmiştir. Bu örnekler GAZİ herbaryumunda bulunmaktadır. Sonuç olarak toplanan 590 adet örneğin değerlendirilmesiyle; 42 aile, 180 tür ve tür altı seviyede; 290 takson tespit edilmiştir. 290 taksonun tamamı Angiospermae aittir. 290 taksondan ise 38'i endemik olup endemizm oranı %13.10'dur.

Tablo 1. Alana yakın diğer alanların endemizm oranları

	Çalışma Alanları				
	1	2	3	4	5
Endemik Takson Sayıları	38	48	39	85	65
Endemizm Oranları	13.10	14.20	18	27.15	15.40
Toplam Takson Sayıları	290	338	216	101	203

- 1 - İ. Çelik-Yassihöyük (Gordion) Florası (Polatlı/Ankara)  
 2 - S. Karaman- Dua Tepe ve Çevresi Florası (Polatlı/Ankara) [19]  
 3 - H. Akgül- Kargalı (Polatlı) ve Gököy (Kalecik) Köy Merasının Florası [20]  
 4 - H. Türker- Ayaş, Güdül, Beypazarı ve Polatlı Arasında Kalan Bölgenin Florası [21]  
 5 - S. Başkaraağaç- Çile Dağı (Polatlı) Florası [22]

Endemizm oranı olarak en fazla Türker'in çalışma alanında (4) (%27.15) görülmektedir. Bu çalışmayı Akgül (3) (%18), Başkaraağaç (5) (%15.40) ve Karaman'ın çalışması (2) (%14.20) izlemektedir. Alanımızda ise bu oran (%13.10) olarak görülmektedir (Tablo 1). Çalışma alanı sınırları içinde yerleşim yerlerinin, mera alanlarının ve tarım arazilerinin bulunması doğal ekolojik yapının bozulmasına sebep olmuştur. Son yıllarda yine bu alanda yapılan bir başka çalışmada bu durumu destekler niteliktedir [23]. Bu etkenler endemizm oranının düşmesine sebep olmuştur.

Araştırma yapılan alandaki taksonlardan, fitocoğrafik bölgesi bilinenlerin 79'u İran-Turan (%27.24), 14'ü Akdeniz (%4.82) ve 5'i Avrupa-Sibirya (%1.72) kökenli olduğu tespit edilmiştir. Türkiye Florası'nda ise 192 taksonun (%66.20) hangi fitocoğrafik bölge elementi olduğu belirtilmemiştir.

Alanın yakınındaki yerlerde yapılan diğer çalışmalarla kıyaslama yapıldığında; çoğunlukta İran-Turan kökenli bitkilerin olduğu gözlenmektedir (Tablo 2). Arazi yapılan alanın tamamının, İran-Turan fitocoğrafik bölgesi sınırları içerisinde yer alması da bu sonuçla paralellik göstermektedir.

Tablo 2. Arazi yapılan alana ait fitocoğrafik bölge elementlerinin yakın bölgedeki çalışmalar ile karşılaştırılması (%)

Fitocoğrafik bölgeler	Araştırma Alanları				
	1	2	3	4	5
İran-Turan	27.24	27.81	25	36.42	23.4
Akdeniz	4.82	7.69	1.8	8.94	7.3
Avrupa-Sibirya	1.72	2.37	0.5	7.01	2.2
Belirlenemeyenler veya çok bölgeli olanlar	66.20	62.13	72.7	12.77	67.1

Araştırma yapılan alandaki endemik bitkilerin tehlike kategorileri incelendiğinde; Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı [16] ve 2001 IUCN Kategorileri [17] göre yeniden düzenlenmiştir. Alanda yer alan ve tehlikede olan endemik türlerin sınıflandırılması; LC (31), NT (3) ve VU (3) olarak belirtilmiştir (Tablo 3).

En fazla cins içeren çalışma alanındaki ilk 10 aile şunlardır; Compositae (31), Cruciferae (18), Gramineae (16), Umbelliferae (14), Leguminosae (13), Labiatae (12), Boraginaceae (10), Caryophyllaceae (6), Liliaceae (6) ve Ranunculaceae (5) (Tablo 4) dir. En fazla cins içeren familyalar Türkiye Florasına göre sırasıyla; Gramineae, Compositae ve Umbelliferae'dir. Araştırma yapılan alanda en çok tür ve tür altı taksonu bulduran familyalar ise; Compositae (51), Leguminosae (31), Cruciferae (27), Labiatae (22), Gramineae (22), Umbelliferae (15), Ranunculaceae (13), Caryophyllaceae (13), Boraginaceae (12), Liliaceae (11) dir. Geriye kalan 73 takson ise diğer familyalara aittir.

En çok tür ve tür altı takson içeren 10 aile ve toplam tür ve tür altı takson sayısına oranlarına Tablo 5'te yer verilmiştir. Türkiye Florası'nda en çok tür içeren aile ise Compositae'dir. Aile üyelerinin ekolojik toleranslarının geniş olması sebebiyle farklı ortamlarda kolaylıkla yaşayabilmektedir. Birçok çalışmaya bakıldığında bu aile ilk sıralarda yer almaktadır. Bu ailenin doğal olarak en fazla taksonla alanımızda tespit edilmiş olması beklenen sonuçlardandır.

Tablo 3. Alandaki endemik taksonların tehlike sınıflarına göre dağılımı

Tür adı	Tehlike sınıfı
<i>Cousinia halysensis</i> Hub.-Mor.	LC
<i>Thymus leucostamus</i> Hausskn. & Velen. var. <i>leucostamus</i>	NT
<i>Marrubium trachyticum</i> Boiss.	NT
<i>Fritillaria fleischeriana</i> Steudel & Hochst. ex Schultes & Schultes fil.	NT
<i>Consollida raveyi</i> (Boiss.) Schröd.	LC
<i>Onobrychis armena</i> Boiss. & Huet	LC
<i>Onobrychis argyrea</i> Boiss. subsp. <i>argyrea</i>	LC
<i>Eryngium bithynicum</i> Boiss.	LC
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench subsp. <i>aucheri</i> (Boiss.) P.H.Davis & Kupicha	LC
<i>Achillea aleppica</i> DC. subsp. <i>zederbaueri</i> (Hayek) Hub. - Mor.	LC
<i>Achillea phrygia</i> Boiss. & Ball.	LC
<i>Moltkia aurea</i> Boiss.	LC
<i>Onosma isauricum</i> Boiss. & Heldr.	LC
<i>Scutellaria orientalis</i> L. subsp. <i>pinnatifida</i> Edmondson	LC
<i>Phlomis armeniaca</i> Willd.	LC
<i>Wiedemannia orientalis</i> Fisch. & Mey.	LC
<i>Marrubium parviflorum</i> Fisch. & C. A. Mey. subsp. <i>oligodon</i> (Boiss) Seybold	LC
<i>Salvia absconditiflora</i> (Montbret & Aucher ex Benth.) Greuter & Burdet	LC
<i>Asperula stricta</i> Boiss. subsp. <i>latibracteata</i> (Boiss.) Ehrend.	LC
<i>Erysimum lycaonicum</i> (Hand.-Mazz.) Hub.-Mor.	LC
<i>Camelina hispida</i> Boiss. var. <i>grandiflora</i> (Boiss.) Hedge	LC
<i>Paronychia amani</i> Chaudhri var. <i>amani</i>	LC
<i>Haplophyllum myrtifolium</i> Boiss.	LC
<i>Astragalus lydius</i> Boiss.	LC
<i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal.	LC
<i>Peucedanum palimbioides</i> Boiss.	LC
<i>Tripleurospermum callosum</i> (Boiss. & Heldr.) E.Hossain	LC
<i>Cousinia stapfiana</i> Freyn & Sint.	LC
<i>Jurinea pontica</i> Hausskn. & Freyn ex Hausskn.	LC
<i>Crepis macropus</i> Boiss. & Heldr.	LC
<i>Taraxacum farinosum</i> Hausskn. & Bornm	LC
<i>Verbascum cheiranthifolium</i> Boiss. var. <i>asperulum</i> (Boiss.) Murb.	LC
<i>Stachys iberica</i> M. Bieb subsp. <i>iberica</i> var. <i>densipilosa</i> Bhattacharjee	LC
<i>Festuca callieri</i> (Hackel ex St.-Yues) F.Markgraf apud Hayek subsp. <i>zederbaueri</i> Markgr.-	LC
<i>Linum aretioides</i> Boiss.	VU
<i>Salvia aytachii</i> Vural & N. Adıgüzel	VU
<i>Achillea ketenoglui</i> H.Duman	VU

Tablo 4. En fazla cins içeren 10 familya ve oranları (%)

Familyalar	Cins Sayıları	Toplam Cins Sayılarına Göre Oranlar (%)
Compositae	31	17.22
Cruciferae	18	10
Gramineae	16	8.88
Umbelliferae	14	7.77
Leguminosae	13	7.22
Labiatae	12	6.66
Boraginaceae	10	5.55
Caryophyllaceae	6	3.33
Liliaceae	6	3.33
Ranunculaceae	5	2.77

Tablo 5. Tür ve tür altı seviyede en çok takson içeren familyalar ve oranları (%)

Familyalar	Takson Sayıları	Toplam Tür Sayılarına Göre Oranlar (%)
Compositae	51	17.58
Leguminosae	31	10.68
Cruciferae	27	9.31
Labiatae	22	7.58
Gramineae	22	7.58
Umbelliferae	15	5.17
Ranunculaceae	13	4.48
Caryophyllaceae	13	4.48
Boraginaceae	12	4.13
Liliaceae	11	3.79
Diğerleri	73	25.17

*Astragalus* cinsi alanımızda 9 taksonla ve toplam tür sayılarına göre (%3.10) oranla en fazla türe sahip cinstir. *Centaurea* 7 (%2.41), *Alyssum* 6 (%2.06); *Consolida*, *Salvia* ve *Allium* 5'er türle (%1.72) temsil edilirler.

Türkiye Florası incelendiği zaman tür sayısı bakımından zengin olan familyalar; Compositae, Leguminosae, Labiatae, Cruciferae, Gramineae'dir. Çalışma alanında ilk üç sırada yer alan; Compositae, Leguminosae, Cruciferae familyalarıdır (Tablo 6).

Compositae familyası sıralama olarak Karaman'da (2) birinci, Akgül (3), Türker (4) ve Başkaraağaç'ın (5) çalışmalarında ise ikinci sırada yer almıştır. Leguminosae familyası Akgül (3), Türker (4), Başkaraağaç'ın (5) çalışmalarında birinci, Karaman'ın (2) çalışmasında altıncı sırada bulunmaktadır. Cruciferae familyası Başkaraağaç'ın (5) çalışmasında altıncı, Akgül (3) ve Karaman'ın (2) çalışmalarında beşinci, Türker'in (4) çalışmasında dördüncü sırada görülmektedir.

Tablo 6. Tür sayısı bakımından zengin olan familyaların çevredeki çalışmalarla karşılaştırılması

Familyalar	Araştırma Alanları									
	1		2		3		4		5	
	Takson sayıları	%	Takson sayıları	%	Takson sayıları	%	Takson sayıları	%	Takson sayıları	%
Compositae	51	17.58	49	14.50	44	20.3	40	12.77	53	12.5
Leguminosae	31	10.68	33	9.76	51	23.6	42	13.42	59	13.9
Cruciferae	27	9.31	22	6.51	14	6.5	21	6.7	15	3.6
Labiatae	22	7.58	31	9.17	16	7.4	30	9.58	46	10.9
Gramineae	22	7.58	37	10.95	31	14.3	34	10.86	27	6.4
Umbelliferae	15	5.17	16	4.73	13	6	15	4.79	16	3.7
Caryophyllaceae	13	4.48	11	3.25	7	3.2	9	2.88	10	2.37
Ranunculaceae	13	4.48	12	3.55	7	3.2	8	2.56	14	3.3
Boraginaceae	12	4.13	15	4.44	5	2.31	16	5.11	16	3.7
Liliaceae	11	3.79	12	3.55	7	3.2	8	3.9	16	3.7

Türkiye Florası'nda en fazla cins içeren ilk 10 familya olarak Gramineae, Compositae, Umbelliferae, Cruciferae, Leguminosae, Labiatae, Caryophyllaceae, Boraginaceae, Liliaceae ve Rosaceae' dir.

Tablo 7'de gibi araştırma yapılan alanda ilk üç sırada Compositae, Leguminosae ve Cruciferae familyaları görülmektedir. Compositae familyası ise karşılaştırma yapılan Türker (4), Karaman (2), Başkaraağaç'ın (5) çalışmalarında da birinci sıradadır. Gramineae familyası Akgül'ün (3) çalışmasında birinci, Türker (4), Başkaraağaç (5) ve Karaman'ın (2) çalışmalarında ikinci sırada yer almaktadır.

Tablo 7. Cins sayısı bakımından zengin olan familyaların çevredeki çalışmalarla karşılaştırılması

Familyalar	Araştırma Alanları									
	1		2		3		4		5	
	Cins sayıları	%	Cins sayıları	%	Cins sayıları	%	Cins sayıları	%	Cins sayıları	%
Compositae	31	17.22	31	14.83	17	13.6	21	12.07	27	11.49
Cruciferae	18	10	15	7.18	11	8.8	15	8.62	10	4.26
Gramineae	16	8.88	23	11.00	22	17.6	20	11.49	22	9.36
Umbelliferae	14	7.77	14	6.70	11	8.8	12	6.90	13	5.53
Leguminosae	13	7.22	13	6.22	13	10.4	13	7.47	18	7.66
Labiatae	12	6.66	15	7.18	12	9.6	15	8.62	17	7.23
Boraginaceae	10	5.55	10	4.78	5	4.0	9	5.17	10	4.26
Caryophyllaceae	6	3.33	6	2.87	6	4.8	9	5.17	7	2.98
Liliaceae	6	3.33	8	3.83	4	1.85	7	4.02	6	2.55
Ranunculaceae	5	2.77	6	2.87	6	4.8	5	2.87	4	1.7

Monocotyledonae olan *Liliaceae* familyasında bulunan; *Allium* cinsi *Amaryllidaceae* familyasına, *Ornithogalum* ve *Muscari* cinsleri *Asparagaceae* familyasına, *Colchicum* cinsi ise *Colchicaceae* familyasına dâhil edilmiştir [13]. Alanda B4 karesi için yapılan literatür çalışmalarından sonra 14 yeni kayıt tespit edilmiştir.

#### B4 Karesi İçin Yeni Kayıtlar:

*Scutellaria orientalis* L. subsp. *pinnatifida* Edmondson

*Capparis spinosa* L. var. *spinosa*

*Minuartia hybrida* (Vill.) Schischk. subsp. *hybrida*

*Linum aretioides* Boiss.

*Astragalus oxyglottis* Stev.

*Trifolium tomentosum* L.

*Trifolium globosum* L.

*Bupleurum boissieri* Post

*Tripleurospermum oreades* (Boiss.) Rech. fil. var. *tchihatchewii* (Boiss.) E.Hossain

*Artemisia campestris* L.

*Stachys iberica* M. Bieb subsp. *iberica* var. *densipilosa* Bhattacharjee

*Galium spurium* L. subsp. *spurium*

*Crocus biflorus* Miller subsp. *crewei* (Hooker fil.) Mathew

*Festuca callieri* (Hackel ex St.-Yues) F.Markgraf apud Hayek subsp. *zederbaueri* Markgr.-Dannenb.

#### Kaynaklar

- [1] Davis, P. H. (1965-1985). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, (1-9), Edinburg: Edinburg University. Press.
- [2] Zeybek, B. (2007). Porsuk Formasyonu Evaporitlerinin Jeokimyasal İncelemesi, Orta Sakarya Bölgesi, İç Anadolu Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. (8-12).
- [3] Anonim (1992). Ankara İli Arazi Varlığı. Ankara: Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü.
- [4] Anonim (2004). Ankara İklim Verileri. Ankara: Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü.
- [5] Akman, Y. (1999). İklim ve Biyoiklim, (pp.212-326). Ankara: Palme Yayınları.
- [6] Davis, P. H., Mill, R. R. & Tan, K. (1988). Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburg University. Press.
- [7] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, (1-500), (supple. 2). Edinburgh: Edinburg University. Press.
- [8] Tutin, G. T., Heywood, V. H., Burges, N.A. (1964-1980). Flora Europaea, (1- 5). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- [9] Guest, E. (1980). Flora of Iraq. Iraq: Published by Ministry of Agriculture and Agrarian Reform.



- [10] Rechinger, K.H. (1981). Flora Iranica, Graz Austria: Scrophulariaceae I, (pp. 134). Akademische Druck-u. Verlagsanstalt.
- [11] Baytop, A. (1998). İngilizce - Türkçe Botanik Kılavuzu. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi.
- [12] Stearn, W.T. (1973). Botanical Latin, History, Grammar Syntax, Terminology and Vocabulary, (pp. 379). Great Britain by Redwood Burn Limited Trowbridge & Esher.
- [13] Greuter, W., Burdet, H. M. & Long, G. (1984-1989). Geneve: Ville de Geneve Med-Checklist Trust of OPTIMA, (1-4). Med-Checklist, Conservatoire et Jardin Botaniques.
- [14] Güner A. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler. İstanbul: NAMAŞ Nurtan Ambalaj ve Matbaacılık.
- [15] Brummitt, R.K.& Powell, C. E. (1999). Authors of Plant Names. USA: The Royal Botanic Gardens, Kew.
- [16] Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z.& Adıgüzel, N. (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği. Van 100. Yıl Üniversitesi.
- [17] IUCN (2001). , UK: Gland, Switzerland and Cambridge.
- [18] Donner J. (1990). Distribution Maps to P. H. Davis, Flora of Turkey (1-10). Linz: Linzer biol. Breitr.
- [19] Karaman, S. (2005). Dua Tepe ve Çevresi Florası (Polatlı-Ankara). Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [20] Akgül, H. (2001). Kargalı (Polatlı) ve Gölköy (Kalecik) Köy Meralarının Florası. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. (106-126).
- [21] Türker, H. (1990). Ayaş, Güdül, Beypazarı ve Polatlı Arasında Kalan Bölgenin Florası. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. (88-89).
- [22] Başkaraağaç, S.(1982). Çile Dağı (Polatlı) Florası. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, (127-132).
- [23] Yıldırım, M., Ayyıldız, G., Keser, A. M., Tuğ, G. N. ve Yaprak, A. E. (2019). Current Population Sizes, Distribution Areas and Re-Evaluated IUCN Categories of Rare and Endemic Species from Central Anatolia, Turkey: *Salsola grandis*, *Scutellaria yildirimlii* and *Sideritis gulendamii*, Biological Diversity and Conservation, 12(2), 151-160.



## Ethnobotanical features of Ula (Muğla/Turkey) district

Serdar KINCAL<sup>1</sup>, Olcay CEYLAN<sup>\*2</sup>, Güven GÖRK<sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0002-7598-1240; 0000-0002-4435-8405; 0000-0001-5766-691X

<sup>1</sup> Muğla Sıtkı Koçman University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, 48000 Muğla, Turkey

<sup>2</sup> Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Science, Department of Biology, 48000 Muğla, Turkey

### Abstract

The ethnobotany field study was conducted between the years 2016-2018 in the central and affiliated neighborhoods of Muğla Province, Ula District and view interviewed with people from different age and social categories. In Ula, our study area, 123 plant species belonging to 53 families were recorded. 70 of these plants have natural distribution in the region and 45 of them are grown by the public. Plants used in the region were mostly used for medical and food purposes. 71 plant species were found medicinal, 69 plant species were used for food and spice purposes. In the district 28 plants are used for burning, broom and goods, 2 plant species are used for cleaning and maintenance purposes. Among the 53 naturally growing families, Rosaceae are represented by 12 species, Lamiaceae with 10 species and the most taxa. *Origanum onites* L. and *Lavandula stoechas* L. belonging to the family Rosaceae *Cydonia oblonga* Mill., *Pyrus communis* L. and Lamiaceae were found to be among the plants widely used in the region. In terms of the number of plant species they contain, these families are followed by 9 species of Fabaceae and 7 species of Poaceae. *Hypericum perforatum* L. var. *perforatum* from Hypericaceae, *Pinus nigra* Arn. from Pinaceae, *Platanus orientalis* L., *Olea europaea* L. from Oleaceae and *Tilia rubra* L. from Tiliaceae, are among the plants widely used in the region.

**Keywords:** Muğla, ethnobotany, Ula, Turkey

----- \* -----

## Ula (Muğla) ilçesinin etnobotanik özellikleri

### Özet

Muğla İli Ula İlçesi Merkez ve bağlı mahallelerinde 2016-2018 yılları arasında yaptığımız etnobotanik alan çalışmamızda farklı yaş ve sosyal kategorilerden kişilerle görüşülmüştür. Çalışma alanımız olan Ula'da 53 familyaya ait 123 bitki türü kaydedilmiştir. Bu bitkilerden 70 tanesi yörede doğal yayılışa sahip olup bu bitkilerin 45 tanesi halk tarafından yetiştirilmektedir. Yörede kullanılan bitkilerin çoğunlukla tıbbi ve gıda amaçlı olarak kullanıldığı görülmüştür. 71 bitki türünün tıbbi, 69 bitki türünün gıda ve baharat amaçlı kullanımları saptanmıştır. Bölgede 28 bitki yakacak, süpürge ve eşya yapımında, 2 bitki türü temizlik ve bakım amaçlı kullanılmaktadır. Doğal olarak yetişen 53 familya içerisinde Rosaceae 12 tür, Lamiaceae 10 türle en fazla taksonla temsil edilen familyalardır. Rosaceae familyasına ait *Cydonia oblonga* Mill., *Pyrus communis* L. ve Lamiaceae familyasına ait *Origanum onites* L. ve *Lavandula stoechas* L.'nin yörede yaygın olarak kullanılan bitkiler arasında olduğu tespit edilmiştir. İçerdiği bitki türü sayısı bakımından bu familyaları 9 türle Fabaceae, 7 türle Poaceae izlemektedir. Ayrıca Hypericaceae'den *Hypericum perforatum* L. var. *perforatum*, Pinaceae'den *Pinus nigra* Arn., Platanaceae'den *Platanus orientalis* L., Oleaceae'den *Olea europaea* L., Tiliaceae'den *Tilia rubra* L. yörede yaygın olarak kullanılan bitkiler arasında yer almaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Muğla, etnobotanik, Ula, Türkiye

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905334108366; Fax.: +902522111472; E-mail: oceylan@mu.edu.tr

© Copyright 2021 by Biological Diversity and Conservation

Geliş tarihi: 09.04.2020; Yayın tarihi: 15.04.2021

BioDiCon. 905-0420

## 1. Giriş

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanılmasının M.Ö. 3000 yıllarına dayandığı ve birçok ünlü Türk bilim adamının (İbn-i Sina, Biruni, Davud Al-Antaki, Ebu Reyhan, İbn Baytar) bitkisel droglarla uğraştığı bilinmektedir [1]. Mezopotamya uygarlığı döneminde bitkisel drog miktarı 250 civarında, Grekliler döneminde drog miktarı 600'e kadar çıkmıştır. Arap-Fars döneminde bu miktar 4000'e kadar yükselmiştir. 19. yüzyıl başlarında bilinen tıbbi bitki sayısı 13000 sayısına ulaşmıştır [2].

Tedavi amacıyla kullanılan yaklaşık 20.000 bitkinin 600 kadarı Türkiye'de doğal olarak yetiştirilmektedir [3]. 20. yüzyılın başlarında teknolojik gelişmelerin getirdiği yenilikler, sosyal ve politik değişimler bitkilerin ilaç olarak kullanımının hızla azalmasına neden olmuştur. Aynı zamanda ilaç sanayinde sentetik ilaçların üretilmesi de bunda etkili olmuştur [4]. Günümüzde insanlar tedavi için laboratuvarlarda üretilen ilaçlar yerine doğal ilaçları tercih etmektedirler. Bunda sentetik ilaçların çok ciddi yan etkilerinin olmasının etkisi büyüktür. Almanya'da 500 farklı bitkiden bitkisel ilaç üretimi için yararlanılmakta, Almanların %52'si önemsiz hastalıkların ilk tedavisi için bitkisel ilaçları kullanmaktadır [5].

Nüfus ve sanayileşme ile insanların doğal kaynaklara olan ihtiyacı gün geçtikçe artmakta ve bu kaynaklardan faydalanma yollarını araştırmaya sevk etmektedir. Türkiye doğal kaynaklarda olduğu gibi bitkisel kaynaklar bakımından da zengin bir ülke konumundadır [6].

Ülkemiz florasına ait yapılmış çalışmalarda ülkemizde yaklaşık 11000 takson bulunmakta ve bu taksonların yaklaşık 500 tanesi tedavi amaçlı kullanılmaktadır [7]. Bitkilerin kullanım alanları çeşitlilik göstermekte olmasına rağmen en fazla kullanımın gıda-tedavi amaçlı olduğu görülmektedir. Bitkilerin başka kullanım alanları içinde iç ve dış mekân süslemesi, kök, çiçek gibi organlarından boyar madde eldesi, reçinesinin kâğıt ve yapıştırıcı üretiminde, çiçek ve uçucu yağından koku eldesi, uçucu yağın psikolojik ve fiziksel rahatlama, kozmetikte, gıda takviyesi olarak, çit, merdiven, kaşık, yaba, sürgü gibi alet yapımında kullanılması sayılabilir.

Muğla ve yöresi bitki çeşitliliği ve sahip olduğu endemik bitkiler bakımından oldukça zengindir. Muğla ili sınırları içerisinde 1219 takson, 1164 tür bulunmakta olup bu türlerin 238 tanesi endemiktir [6]. Ülkemizde ise son yıllarda etnobotanik çalışmalara verilen önem artmış ve kaybolmaya yüz tutmuş olan bu değerlerimizi ortaya çıkarmak için birçok çalışma yapılmıştır [8-13]. Özellikle Muğla ilinde [14-19] birçok etnobotanik çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Ula ilçesinin de çalışılmasıyla Muğla ilinin etnobotanik alandaki çalışmalarının büyük ölçüde tamamlanması çalışma amacımızı oluşturmaktadır.

### 1.1 Çalışma Alanı

Ula, Muğla ilinin bir ilçesidir ve "Flora of Turkey" deki kareleme sistemine göre "C2" karesinde bulunmaktadır. Ula, Muğla'nın güneyinde 28, 25°-28, 75° kuzey paralelleri ve 37°-37, 15° doğu meridyenleri arasındadır. Doğusunda Köyceğiz, batısında Gökova körfezi, kuzeyinde Muğla, güneyinde Marmaris vardır. Yüzölçümü 407 km<sup>2</sup>'dir. Ula merkez deniz seviyesinden 600 metre yüksekliktedir. Muğla-Ula mesafesi 15 km, Muğla-Marmaris karayolu üzerinden gidildiğinde, anayoldan 3 km içeride kalır. 2016 TÜİK verilerine göre nüfusu 23877 kişidir ( Şekil 1.).



Şekil 1. Ula (Muğla) İlçe Haritası

Ula ilçesi, il merkezine en yakın ilçe olup 14 km mesafededir. İlçenin dört tarafı da dağlarla çevrilidir, 5 km kıyı uzunluğu ile denize en az kıyısı olan ilçede arazi engebeli olup %65'i ormanlarla kaplıdır. En önemli akarsuyu ilçenin doğu sınırlarını belirleyen Namnam çayıdır. İlçede Akdeniz iklimi etkilidir. Yazlar kurak ve sıcak, kışlar ılık ve yağışlıdır..

## 2. Materyal ve yöntem

Ula ilçe merkezi ve bağlı 26 mahalle çalışma alanımızı oluşturmaktadır. Bu çalışmada Ula halk pazarında, meydanlarda, kahvelerde, mahallelerin muhtarlarının yönlendirdiği bitkisel tedavi uygulayan yaşlılarla evlerinde ya da kahvede toplu olarak bulabildiğimiz toplamda 128 kişi ile görüşülmüştür. Ula merkez ve halk pazarında bulunan aktarlardan da yöresel bitki kullanımları hakkında bilgi alınmıştır. Diğer kaynak kişiler gidilen mahallelerdeki yerel halktır.

Görüşülen farklı yaş ve kültür yapısındaki kişilerin; ilçe pazarındaki ve aktardaki satıcıların farklı amaçlarla kullandıkları bitkiler tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu görüşmeler sırasında kaynak kişilere hazırladığımız anketler doğrultusunda sorular yöneltilmiştir. Anketler sonucu elde edilen bilgiler ve örneklenen bitkiler çalışmamızın araştırma materyalini oluşturmaktadır.

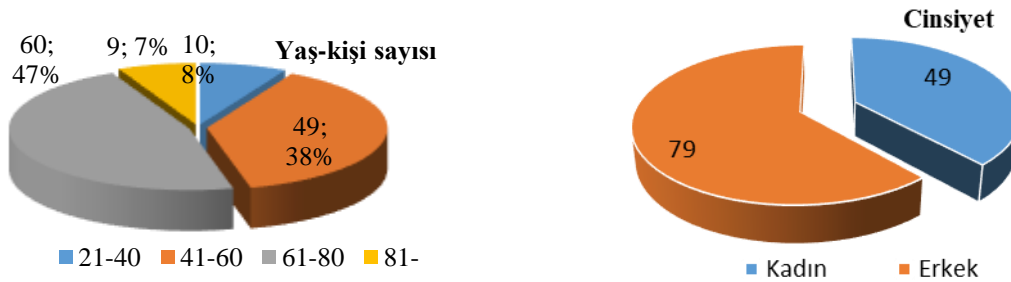
Anketimizin içeriğinde sorduğumuz sorular ile kullanılan bitkilerin yöresel adı, bitkinin kullanılan kısmı, kullanım amacı ve nasıl kullanıldığına dair bilgiler, bu bilgileri kimden öğrendiği, hangi sıklıkla kullanılması gerektiği, bitki örneğinin alındığı mevkii, anket yapılan kişinin yaş, cinsiyet, eğitim durumu gibi özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Ek 1).

Anketler sonucu kullanımı tespit edilen bitkilerin pazarda ve aktarda satılan kuru formlarından örnekler alınmış, ya da bitkilerin fotoğrafı çekilmiştir. Bitkilerin teşhisi ‘Flora of Turkey and The East Aegean Islands [6] kaynaklarına göre yapılmıştır. ‘Ege Bölgesi Bitki Örtüsü’ [20] ve ‘Edible Wild Plants of Turkey’ [21] bitkilerle ilgili bilgiler bakımından faydalandığımız kaynaklardır. Ayrıca Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Biyoloji Bölümü herbaryumundan da faydalanılmıştır. Anketlerdeki bitkilerin yöresel isimleri anket yapılan kişiye sorularak belirlenmiştir Karşılaştırma yapabilmek için ‘Türkçe Bitki Adları Sözlüğü’ [22] ve ‘Tohumlu Bitkiler Sistematigi’ [23] ve ‘Türkiye’de Bitkilerle Tedavi’ [2] ve ‘Türkiye Bitkileri Listesi, Damarlı Bitkiler’ [24] kitapları referans alınmıştır.

Çalışmadaki bitkilerin tanımı ve yayılış alanlarının belirlenmesi için ‘Tohumlu Bitkiler Sistematigi’ [23] kitabı, ‘Flora of Turkey and The East Aegean Islands [6] ve [Türkiye](#) Bitkileri Veri Servisi (Tübives) internet adresinden yararlanılmıştır. Anketler sonucu belirlenen bitkilerin bilimsel adları, yöresel adları, bitki örneğinin alındığı yer, kullanılan bitkilerin özellikleri, bitkinin kullanım amacı, kullanım şekli ve kaynak kişileri belirlenmiştir.

## 3. Bulgular

Ula merkez ve 26 mahallesinde 49 kadın, 79 erkek toplam 128 kişi ile görüşülerek anket çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kişilerden 9 tanesi Ula merkezden, 119 tanesi Ula’ya bağlı mahallelerdendir. Yapılan çalışma sonucuna göre demografik özelliklere ait bilgiler Şekil 2’ de verilmiştir.

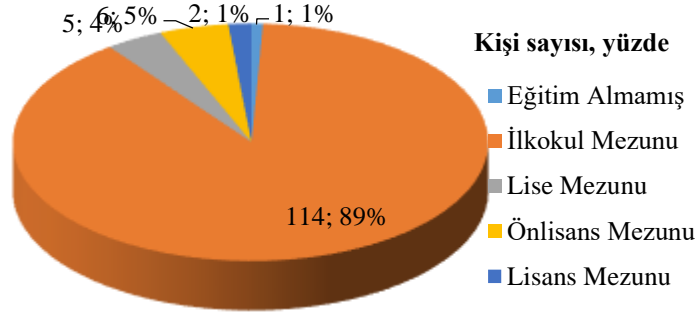


Şekil 2. Katılımcıların yaş ve cinsiyet dağılımları

Yaptığımız alan çalışmasında erkeklerin çoğunlukta olmasının nedeni görüşmelerin daha çok kahvehanelerde, meydanlarda yapılmasıdır. Görüşülen kadınların 47’si, erkeklerin 67’si ilkökul mezunudur. İlkokul mezunu toplam 114 kişiden 109 kişinin 40 ve üstü yaşlarda olduğu görülmüştür.

Bölgede görüşülen 128 kişinin eğitim durumlarına bakıldığında 1 kişinin ilk eğitimini tamamlayamamış olduğu görülmektedir. Çalışmamızda ortaokul mezunu kimseyle görüşülmemiştir. 128 kişiden 114’ü (%89) ilkökul, 6’sı (%5) ön lisans, 5’i (%4) lise, 2’si (%1) lisans mezunu olduğu görülmüştür (Şekil 3).

Ula ve mahallelerinde yaptığımız etnobotanik çalışmamızın sonucunda burada yaşayan yerel halkın çeşitli bitki türlerini tedavi, gıda, baharat, yakacak, süpürge veya eşya yapımında ayrıca temizlik, bakım ve karışım halinde kullandığı görülmüştür.



Şekil 3. Katılımcıların eğitim durumu

Araştırmalarımız sonucunda Ula merkez ve mahallelerinde tedavi amaçlı 72 adet bitki bulunmaktadır (Tablo 1). Bu bitkilerden 9 tanesi grip, nezle ve soğuk algınlığında, 8 tanesi idrar söktürücü olarak, 8 tanesi kan şekerinin düzenlenmesinde, 6 tanesi hazımsızlık tedavisinde, 5 tanesi kansızlık tedavisinde, 3 tanesi kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı bitkiler birden fazla hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. *Allium cepa* L., grip, iltihap giderilmesi, burkulma tedavisinde, *Arbutus unedo* L., idrar söktürücü, kan şekerinin düzenlenmesinde, *Lavandula stoechas* L., hazımsızlık, akciğer iltihabı ve kan şekerinin düzenlenmesinde, grip ve nezle, kalp rahatsızlığı tedavisinde, *Tilia rubra* L., soğuk algınlığı, kansızlık, hazımsızlık tedavisinde, *Salvia fruticosa* Mill., nezle ve grip, karın ağrısı tedavisi, *Sideritis leptoclada* O. Schwarz (Endemik), nezle ve grip, karın ağrısı tedavisi, *Origanum onites* L., karın ağrısı, burkulma tedavisi, mide üşütmesi, iltihap giderilmesinde kullanılmıştır.

Tablo 1. Tedavi amaçlı kullanılan bitkiler

Familiya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Uygulama ve kullanan kişi sayısı
Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Gövde-yaprak	Kanser, 3
			Kök	Grip, burkulma, iltihap giderilmesi, 7
	<i>Allium sativum</i> L.	Sarımsak	Kök	Saç kıran tedavisi, 1
Anacardiaceae	<i>Pistacia terebintus</i> L. subsp. <i>palaestina</i> (Boiss.) Engler	Menevis, menengiç	Genç sürgün	Yutma zorluğu, 1
			Sakız	Hazımsızlık, yaraların tamiri, 3
Apiaceae	<i>Apium graveolens</i> L.	Kereviz	Kök-toprak üstü organları	Demir eksikliği tedavisi, 1
	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) A. W. Hill	Maydanoz	Dal-yaprak	İdrar yolları enfeksiyonu, 3
	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Anason	Tohum	Gaz söktürücü, 1
	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Kiskis	Toprak üstü organları	Yutma zorluğu, 1
Asphodelaceae	<i>Asphodelus aestivus</i> Brot.	Çiriş Otu	Kök	Basur tedavisi, 1
Asteraceae	<i>Anthemis tictoria</i> L.	Papatya, beyaz papatya	Kapitulum	Hazımsızlık, 1
			Toprak üstü organları	Grip tedavisi, 2
	<i>Cynara scolymus</i> L.	Enginar	Toprak üstü organları	Karaciğer rahatsızlıkları, 2
	<i>Helianthus annuus</i> L.	Ayçiçeği	Tohum	Prostat, kan şekeri düzenlenmesi, 1
Boraginaceae	<i>Borago officinalis</i> L.	Sığır Dili	Toprak üstü kısımları	Hemoroit, prostat, 2
Brassicaceae	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	Beyaz lahana	Yaprak	Burkulma tedavisi, karın ağrısı, 2
	<i>Lepidium sativum</i> L.	Tere	Tohum	Guatr tedavisi, 1
Capparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L. var. <i>aegyptia</i> (Lam.) Boiss.	Kebere, kapari, gebere	Meyve	Sinüzit tedavisi, 1
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i> L. var. <i>pyramidalis</i>	Servi, mezarlık servisi	Kozalak	İdrar söktürücü, 1
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Topalak otu-Pamukluk	Gövde	Mide üşütmesi, 1

Tablo 1. (Devam ediyor)

Familya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Uygulama ve kişi sayısı
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i> L.	Sandal	Meyve	İdrar söktürücü, kan şekeri düzenlenmesi,2
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia amygdaloides</i> L.	Sütleğen	Süt salgısı	Böcek sokmaları, siğil tedavisi,2
Fabaceae	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Keçiboynuzu, harnup, harıp	Meyve-tohum	Öksürük,1
	<i>Lens culinaris</i> L.	Mercimek	Meyve-tohum	Bronşit,1
	<i>Vicia ervilia</i> (L.) Willd.	Burçak	Tohum	Demir eksikliği,1
Fagaceae	<i>Quercus coccifera</i> L.	Meşe, Kızılpınar	Toprak üstü organları	Yara tedavisi,2
Fagaceae	<i>Quercus coccifera</i> L.	Meşe, Kızılpınar	Palamut	Toksik guatr tedavisi,1
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar orientalis</i> Mill.(End.)	Sığla, günlük	Uçucu Yağı	Ülser, yaraların tedavisi,5
Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i> L. var. <i>perforatum</i>	Kantaron otu	Toprak üstü organları	Yanık ve yara tedavisi,8
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	Ceviz	Tohum	Bronşit tedavisi,1
			Tohum kabuğu püskülü	İltihap giderici,1
			Yaprak	Bademcik tedavisi,1
			Tohum Zarı	Bronşit tedavisi,1
Lamiaceae	<i>Lavandula stoechas</i> L.	Karan	Toprak üstü organları	Hazımsızlık, akciğer iltihabı tedavisi, kan şekerinin düzenlenmesi,6
			Çiçek	Grip ve nezle tedavisi, kalp rahatsızlığı tedavisi,2
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Narpız	Toprak üstü organları	Karın ağrısı tedavisi,2
	<i>Mentha x piperita</i> L.	Nane	Toprak üstü organları	Nezle ve grip, karın ağrısı tedavisi,4
	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Fesleğen, reyhan	Yaprak-çiçek	Kolesterol tedavisi,1
	<i>Origanum onites</i> L.	Kekik	Toprak üstü organları	Karın ağrısı, mide üşütmesi, bertilme tedavisi,15
			Uçucu Yağı	Karın ağrısı,3
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Biberiye	Dal-yaprak	Tansiyon, damar açıcı, ağrı kesici,2
	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	Adaçayı, çalba, geyik elması	Toprak üstü organları	Nezle-grip, karın ağrısı tedavisi,6
	<i>Sideritis leptoclada</i> O. Schwarz et P.H. Davis (Endemik)	Kızlan çayı, dağ çayı	Toprak üstü organları	Nezle-grip, karın ağrısı tedavisi,3
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Bodurcamahmut	Toprak üstü organları	İdrar yolları enfeksiyonu,1	
<i>Teucrium polium</i> L.	Yavsancık-Epiryavşan Otu	Toprak üstü organları	Kan şekerinin düzenlenmesi,1	
Lauraceae	<i>Cinnamomum verum</i> L.	Tarçın	Gövde örtüsü	Kan şekerinin düzenlenmesi,1
			Meyve	Romatizma tedavisi,2
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Defne, tenel, teğnel	Uçucu Yağı	Kas yorgunluğu, tansiyon düşürücü,2
Liliaceae	<i>Urginea maritima</i> Baker	Ada Soğanı	Kök-yaprak	Kas ağrısı tedavisi,1
Linaceae	<i>Linum usitatissimum</i> L.	Keten	Tohum	Hazımsızlık, gaz sancısı tedavisi,1
Lythraceae	<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Meyve	Kansızlık tedavisi,1



Tablo 1. (Devam ediyor)

Familya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Uygulama ve kişi sayısı
Malvaceae	<i>Hibiscus esculentus</i> L.	Bamya	Çiçek	Astım, bronşit tedavisi,1
			Meyve	İltihap, çıban tedavisi,1
	<i>Malva sylvestris</i> L.	Ebegömece otu	Toprak üstü organları	Burkulma, incinme tedavisi,1
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i> var. <i>caprificus</i> Tsch. et Rav	İncir Boğası, erkek incir	Meyve	Bronşit, kabızlık tedavisi,2
	<i>Morus alba</i> L.	Dut	Yaprak	Kan şekerinin düzenlenmesi,1
	<i>Morus nigra</i> L.	Karadut	Meyve	Sindirim sistemi yaralarının tamiri,1
Oleaceae	<i>Olea europea</i> L. var. <i>sylvestris</i> (Mill.) Lehr	Zeytin	Meyve yağı	Burkulma, iltihap, bronşit tedavisi,4
Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i> L.	Susam	Tohum	Yeni doğanda gaz sancısı tedavisi,2
Pinaceae	<i>Pinus brutia</i> Ten.	Çam, kızılçam	Genç filiz	Kansızlık tedavisinde,1
	<i>Pinus nigra</i> Arn subsp. <i>pallasiana</i> (lamb) Holmboe	Karaçam	Akma	Egzama tedavisinde,1
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i> L.	Kavak	Yaprak	Kemik erimesi tedavisi,1
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	Ayrık otu	Kök	İdrar söktürücü, iltihap giderici, basur tedavisinde,2
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Arpa	Tohum	Böbrek taşı tedavisi, yara-burkulma tedavisinde,3
			Tohum	İneklere plasenta düşürülmesi,2
	<i>Triticum aestivum</i> L.	Buğday	Genç sürgün	Yumurtalık kanseri tedavisinde,1
	<i>Zea mays</i> L.	Mısır	Püskül	İdrar söktürücü, böbrek taşının düşürülmesi,3
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Yaprak	Hazımsızlık tedavisinde,1
Rhamnaceae	<i>Paliurus spina-christi</i> Mill.	Karaçalı, karaçalı diken	Tohum	Böbrek taşı tedavisi,2
Rosaceae	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Kayısı	Meyve sapı	Kabızlık tedavisinde,1
			Meyve	Kabızlık tedavisinde,1
	<i>Cerasus vulgaris</i> Mill.	Vişne	Meyve sapı	İdrar söktürücü,1
	<i>Cerasus avium</i> (L) Moench	Kiraz	Meyve sapı	İdrar söktürücü,1
	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ayva	Yaprak	İshal tedavisi,2
	<i>Malus sylvestris</i> Mill.	Elma	Meyve	Burkulma tedavisi,1
	<i>Rosa canina</i> L.	Kuşburnu	Meyve	Kansızlık, kan şekerinin düzenlenmesi,2
<i>Rubus sanctus</i> Schreber.	Böğürtlen	Kök	Hazımsızlık tedavisi,1	
Rutaceae	<i>Citrus aurantiifoli</i> L.	Bergamut	Meyve	Öksürük tedavisi,1
	<i>Citrus limon</i> L.	Limon	Meyve	Soğuk algınlığı, nezle-grip tedavisi,3
Salicaceae	<i>Populus tremula</i>	Selvi	Yaprak	Baş ağrısı tedavisi,1
Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.	Köpek sirkeni	Meyve	Çıban tedavisi,1
Tiliaceae	<i>Tilia rubra</i> L.	Ihlamur	Dal-yaprak	Soğuk algınlığı, kansızlık, hazımsızlık tedavisi,5
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	Isırgan otu	Toprak üstü organları	Kanser tedavisi,1
Verbenaceae	<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Hayıt	Yaprak	Karın ve baş ağrısı tedavisi,2
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.	Üzüm	Meyve-tohum	Kansızlık tedavisi,1

Yapılan çalışmalar sonucunda 69 bitki türünün baharat, gıda ve içecek olarak kullanıldığı görülmüş (Tablo 2), bunlardan *Citrus nobilis* Lour., ve *Citrus sinensis* (L.) Osbeck., *Capsicum annum* L., en fazla oranda tüketilen bitkilerdir.

Tablo 2. Gıda ve baharat olarak kullanılan bitkiler

Familiya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Yemek –baharat ve kişi sayısı
Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Kök-Yaprak	Yemek, 1
	<i>Allium porrum</i> L.	Pırasa	Kök-Yaprak	Yemek,2
	<i>Allium sativum</i> L.	Sarımsak	Kök-Yaprak	Yemek,1
Anacardiaceae	<i>Rhus coriaria</i> L.	Sumak	Meyve	Baharat,2
Apiaceae	<i>Anethum graveolens</i> L.	Dereotu	Topraküstü organları	Yemek,1
	<i>Apium graveolens</i> L.	Kereviz	Topraküstü organları	Yemek,2
	<i>Oenanthe pimpinelloides</i> L.	Gazayak, gazyak	Topraküstü organları	Yemek,1
	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) A. W. Hill	Maydonoz	Yaprak	Yemek,3
	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Kiskis	Topraküstü organları	Yemek,3
Aracaceae	<i>Cocos nucifera</i> L.	Hindistan Cevizi	Meyve	Yemek,1
Asparagaceae	<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Tilkimen, Tilkişen	Genç Sürgün	Yemek,1
Asteraceae (Compositae)	<i>Cynara scolymus</i> L.	Enginar	Topraküstü organları	Yemek,2
	<i>Tragopogon porrifolius</i> L.	Dede sakalı	Toprak üstü organları	Yemek,1
Brassicaceae (Cruciferae)	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> L.	Beyaz lahana	Yaprak	Yemek,1
Chenopodiaceae	<i>Salicornia europaea</i> L.	Deniz Börülcesi	Toprak üstü organları	Yemek,3
	<i>Beta maritima</i> L. var. <i>maritima</i>	Pancar, mancar	Kök	Yemek,1
Corylaceae	<i>Corylus maxima</i> Mill.	Fındık	Tohum	Yemek,1
Cucurbitaceae	<i>Citrillus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. et. Naksi.	Karpuz	Meyve	Yemek,2
	<i>Cucumis sativus</i> L.	Salatalık	Meyve	Yemek,1
	<i>Cucumis melo</i> L.	Kavun	Meyve	Yemek,2
	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Ak kabak, kabak	Meyve	Yemek,2
	<i>Arachis hypogaea</i> L.	Fıstık	Tohum	Yemek,1
Fabaceae (Leguminosae)	<i>Lens culinaris</i> Medik	Mercimek	Tohum	Yemek,1
	<i>Medicago sativa</i> L.	Yonca	Topraküstü organları	Yemek,2
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fasulye	Tohum-Meyve	Yemek,2
	<i>Vicia faba</i> L.	Börek bakla	Meyve-Yaprak	Yemek,1
	<i>Vigna anguiculata</i> (L.)Walp.	Börülce	Meyve-Tohum	Yemek,2
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	Ceviz	Meyve	Yemek,1
Lamiaceae (Labiatae)	<i>Origanum onites</i> L.	Kekik	Toprak üstü organları	Baharat, 1
Lythraceae	<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Meyve	Yemek,1
Malvaceae	<i>Hibiscus esculentus</i> L.	Bamya	Meyve	Yemek,1
	<i>Malva sylvestris</i> L.	Ebegümeçi, ebegümeç	Toprak üstü organları	Yemek,2
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i> var. <i>caprificus</i> Tsch. et Rav.	İncir Boğası, erkek incir	Meyve	Yemek,1
	<i>Morus alba</i> L.	Dut	Meyve	Yemek,1
	<i>Morus nigra</i> L.	Karadut	Meyve	Yemek,1

Tablo 2. (Devam ediyor)

Familya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Yemek –baharat ve kişi sayısı
Musaceae	<i>Musa sapientum</i> L.	Muz	Meyve	Yemek,1
Oleaceae	<i>Olea europea</i> L. var. <i>sylvestris</i> (Mill.) Lehr	Zeytin	Meyve	Yemek,2
Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i> L.	Susam	Tohum	Yemek,3
Poaceae	<i>Avena sativa</i> L.	Yulaf	Tohum	Yemek,1
	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Arpa	Tohum	Yemek,4
			Toprak üstü organları	Yemek,1
	<i>Triticum aestivum</i> L.	Buğday	Tohum	Yemek,1
			Toprak üstü organları	Yemek,5
	<i>Zea mays</i> L.	Mısır	Toprak üstü organları	Yemek,2
Tohum			Yemek,3	
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i> L.	Kuzu Kulağı	Toprak üstü organları	Yemek,1
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Nar	Meyve	Yemek,1
Rosaceae	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Kayısı	Meyve	Yemek,1
	<i>Amygdalus communis</i> L.	Badem	Tohum	Yemek,1
	<i>Cerasus vulgaris</i> Mill.	Vişne	Meyve	Yemek,1
	<i>Cerasus avium</i> (L) Moech	Kiraz	Meyve	Yemek,1
	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ayva	Meyve	Yemek,2
	<i>Fragaria vesca</i> L.	Çilek	Meyve	Yemek,1
	<i>Malus sylvestris</i> Mill.	Elma	Meyve	Yemek,1
	<i>Prunus percica</i> L.	Şeftali	Meyve	Yemek,1
	<i>Pyrus amygdaliformis</i> Vill. var. <i>amygdaliformis</i>	Çöğür, ahlat, aklat	Meyve	Yemek,1
	<i>Pyrus communis</i> L.	Armut	Meyve	Yemek,1
<i>Rosa canina</i> L.	Kuşburnu	Meyve	Yemek,2	
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> L.	Limon	Meyve	Yemek,1
	<i>Citrus nobilis</i> Lour.	Mandalina	Meyve	Yemek,4
	<i>Citrus paradisi</i> McFad.	Greyfurt	Meyve	Yemek,1
	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck.	Portakal	Meyve	Yemek,5
Solanaceae	<i>Capsicum annum</i> L.	Biber	Meyve	Baharat, Yemek,3
	<i>Capsicum lycopersicum</i> L.	Domates	Meyve	Yemek,2
	<i>Solanum melongena</i> L.	Patlıcan	Meyve	Yemek,2
	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Patates	Kök	Yemek,2
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i> L.	Çay	Yaprak	İçecek,1
Tiliaceae	<i>Tilia rubra</i> L.	İhlamur	Yaprak	İçecek,1
Urticaceae	<i>Urtica dioica</i> L.	Isırgan otu	Toprak üstü organları	Yemek,1
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.	Üzüm	Meyve	Yemek,2
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zencefil	Kök	Baharat,1

Yapılan çalışmalar sonucunda 26 bitki türünün çeşitli eşya yapımında ve yakacak olarak kullanıldığı görülmüştür ( Tablo 3). *Pinus nigra* Arn subsp. *pallasina* (Lamb) Holmboe ve *Platanus orientalis* L. hem yakacak hem de çeşitli eşya yapımında en sık kullanılan bitki türleri olmuştur. Bunun sebebi bu bitkilerin bölgede geniş yayılışa sahip olmasıdır.

Tablo 3. Çeşitli eşya ve yakacak olarak kullanılan bitkiler

Familiya	Latince Adı	Yöresel Adı	Kullanılan kısımları	Kullanım tipi, kişi sayısı
Anacardiaceae	<i>Pistacia lenticus</i> L.	Sakız Ağacı	Gövde	Kaşık, 1
	<i>Pistacia terebintus</i> L. subsp. <i>palaestina</i> (Boiss.) Engler	Menevis, menengiç	Gövde	Toprak sürgüsü, 1
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Zakkum, ay ağacı	Gövde-dal	Çapa-kürek sapı, 1
Betulaceae	<i>Carpinus betulus</i> L.	Gürgen	Gövde-dal	Kaşık, 1
Cupressaceae	<i>Juniperus drupacea</i> Lab.	Andız	Gövde-kozalak	İzolasyon sıvısı, 1
	<i>Juniperus foetidissima</i> Willd.	Ardıç	Gövde	İp kırmanı, 1
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i> L.	Sandal	Gövde-dal	Ekmekek, et dibeği, 3
Fagaceae	<i>Quercus coccifera</i> L.	Kızıl pınar	Gövde-dal	Toprak sürgüsü, 3
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar orientalis</i> Mill.(End.)	Sığla, günlük	Dal, gövde	Yakacak, 1
Juglandaceae	<i>Juglans regia</i> L.	Ceviz	Toprak üstü organları	Yakacak, 1
Meliaceae	<i>Melia azederach</i> L.	Tesbih Ağacı	Gövde	Sırık yapımı, 1
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i> var. <i>caprificus</i> Tsch. et Rav.	İncir Boğası, erkek incir	Gövde-dal	Yakacak, 1
	<i>Morus alba</i> L.	Dut	Gövde-dal	Et dibeği, 1
Myrtaceae	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Sulfata	Gövde-dal	Tavan kerestesi, 2
Pinaceae	<i>Pinus brutia</i> Ten	Çam, kızılçam	Gövde-dal	Saban, sürgü, boyunluk yapımı, 2
	<i>Pinus nigra</i> Arn subsp. <i>pallasina</i> (Lamb)Holmboe	Karaçam	Gövde-dal	Kovan, dibek, yayık yapımı, 6
	<i>Pinus pinea</i> L.	Fıstık çamı	Gövde-dal	Sürgü, dibek yapımı, 1
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i> L.	Kavak	Gövde-dal	Sürgü, kovan, dibek yapımı, 7
	<i>Arundo donax</i>	Saz Kargı	Gövde-dal-yaprak	Hasır, kilim, sepet yapımı, 1
Poaceae	<i>Sorghum vulgare</i> L.	Süpürge Otu	Toprak üstü organları	Süpürge, 3
Rosaceae	<i>Pyrus communis</i> L.	Armut	Gövde	Dibek, kaşık, hapaz, 3
	<i>Pyrus amygdaliformis</i> Vill. var. <i>amygdaliformis</i>	Çöğür	Gövde	Et kesme tahtası, dibek yapımı, 1
Salicaceae	<i>Populus tremula</i>	Selvi	Gövde-dal	Tavan kerestesi, dibek, Hapaz, 1
	<i>Salix fragilia</i> L.	Kargı-Söğüt	Gövde-dal	Sepet, 1
Thymelaceae	<i>Daphne gnidioides</i> Jaub. et Spach	Eğircik çalısı, eğircik, emicik	Gövde-yaprak	Süpürge, 1
Typhaceae	<i>Typha domingensis</i> (Pers) Steudel	Hasır Otu	Toprak üstü organları	Hasır, sepet, 1

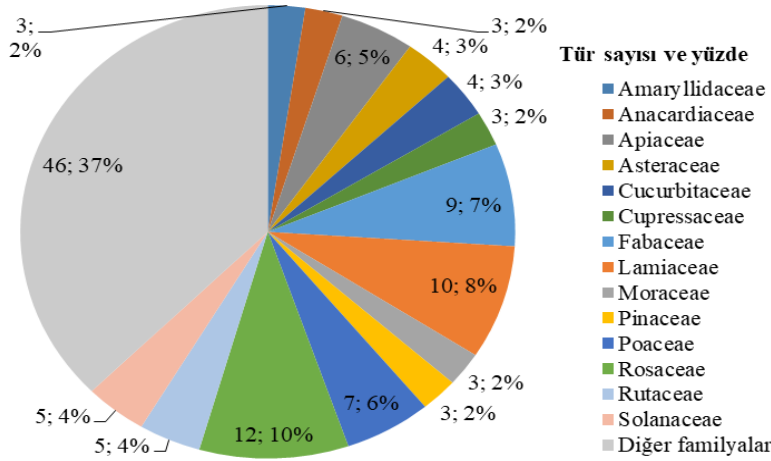
Yapılan çalışmalar sonucunda 11 farklı karışımda 16 adet bitki türü tespit edilmiştir (Tablo 4). 12 adet bitkinin tedavi amaçlı kullanıldığı gibi gıda olarak da kullanıldığı görülmüştür. *Allium cepa* L., *Origanum onites* L., *Mentha x piperita* L., bu tür karışımlarda en çok kullanılan bitki türleri olarak görülmüştür.

Tablo 4. Karışım olarak kullanılan bitkiler

Familya	Bilimsel Adı	Yerel İsmi	Kullanılan Kısım	Kullanım Amacı	Kullanım Şekli	Kişi sayısı
Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Toprak üstü organları	Tıbbi	Lapa	1
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L.	Kekik	T.üstü organları			
Lamiaceae	<i>Mentha x piperita</i> L.	Nane	T.üstü organları			
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L.	Soğan	Kök	Tıbbi	Lapa	3
Lamiaceae	<i>Mentha x piperita</i> L.	Kekik	T.üstü organları			
Pinaceae	<i>Pinus nigra</i> Arn subsp., <i>pallasina</i> (lamb) Holmboe	Karaçam	Kozalak	Tıbbi	Lapa	3
Anacardiaceae	<i>Pistacia terebinthus</i> L.	Meneviş, Menengiç	Genç sürgünler	Tıbbi	Doğrudan	1
Apiaceae	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Kişkiş, Kingiş	T.üstü organları			
Apiaceae	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Kişkiş, Kingiş	T.üstü organları	Gıda	Pişirilerek	1
Apiaceae	<i>Anethum graveolens</i> L.	Dereotu	T.üstü organları			
Asteraceae	<i>Tragopogon porrifolius</i> L.	Dede sakalı	T.üstü organları			
Asphodelaceae	<i>Asphodelus aestivus</i> L.	Kiriş otu, Çiriş otu	Kök	Tıbbi	Lapa	1
Amaryllidaceae	<i>Allium sativum</i> L.	Sarımsak	Kök			
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Topalak otu	T.üstü organları	Tıbbi	Lapa	1
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Fesleğen	Yaprak			
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L.	Kekik	T.üstü organları			
Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Kök	Tıbbi	Dekoksiyon	1
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L.	Nane	T.üstü organları			
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> L.	Limon	Meyve	Tıbbi	Lapa	4
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L.	Nane	T.üstü organları			
Oleaceae	<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Yağ			
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i> var. <i>caprificus</i> Tsch. et Rav.	İncir	Meyve	Tıbbi	Doğrudan	1
Oleaceae	<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Yağ			
Oleaceae	<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Yağ	Tıbbi	Kaynatılarak	1
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> L.	Limon	Meyve			
Verbenaceae	<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Hayıt	Yaprak	Tıbbi	Lapa	1
Oleaceae	<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Yağ			

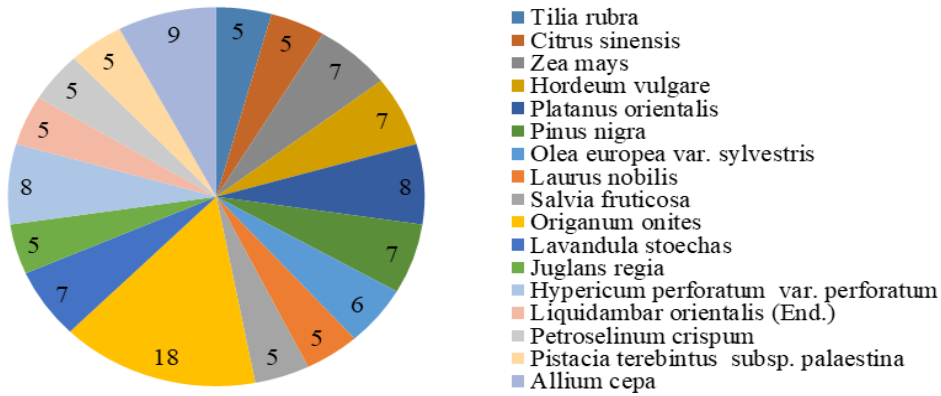
#### 4. Sonuçlar ve tartışma

Bölgede halkın kullandığı 123 bitki türünden 12'si % 15 temsil oranıyla Rosaceae familyasına aittir (Şekil 4). Rosaceae familyasına ait türlerin daha fazla kullanılmasının nedeni, bölgede tarımının yüksek miktarlarda yapılması ve dolayısıyla her türlü tüketiminin bölgede yaygın olmasından kaynaklanmaktadır. Çalışma alanımıza yakın Bodrum [14], Datça [16], Fethiye [17], Marmaris [18], Ortaca [25] gibi alanlarda yapılan diğer etnobotanik çalışmalarında da benzer sonuçlar görülmüştür.



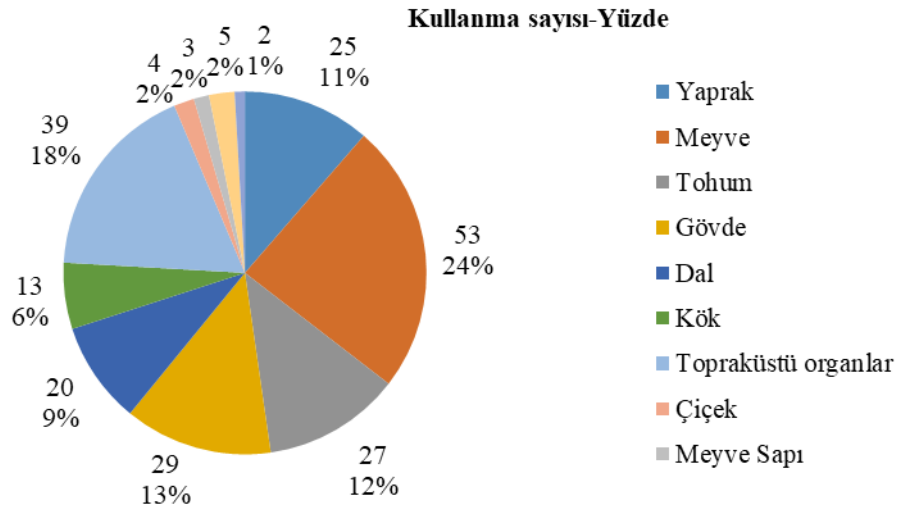
Şekil 4. Toplam tür sayısına göre familyalar

Bölgede 123 bitki türü arasında Lamiaceae familyasına ait olan *Origanum onites* L., 18 kişi tarafından kullanılarak en fazla kullanılan tür olmuştur (Şekil 5). Bölgede yapılan diğer çalışmalarda [15, 17-20] da aynı durumun görülmesi bu bitkinin bölgede geniş bir yayılışa sahip olduğunu gösterir.



Şekil 5. Kullanım sayılarına göre bitki türleri

Kullanılan organların büyük çoğunluğunu %24 (53 tür) oranla meyve oluşturmaktadır (Şekil 6). En fazla kullanılan organın meyve olması bölgenin meyve çeşitliliği bakımından zengin olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 6. Kullanılan organların kullanım yüzdesi



*Olea europea* L., *Allium cepa* L., *Origanum onites* L., *Hypericum perforatum* L., *Lavandula stoechas* L., gibi bazı türler Muğla ilinde yapılan diğer benzer çalışmalarda da aynı amaçla kullanıldığı gibi, farklı amaçla da kullanılabilir [14-19, 25]. Bu da bize bu bitkilerin halk arasında hala yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir.

Muğla ilinde yapılan etnobotanik çalışmalarında verilen bilgiler arasında bitkilerin kullanım şekilleri ve amaçları gibi faktörler arasında büyük benzerlik söz konusu iken bitkilerin yerel adları arasında farklılıklar da gözlenebilmektedir. Bu farklılığa bilgilerin nesilden nesile sözlü olarak aktarılması, kısmen ya da tamamen değişime açık olması, bölgeden bölgeye kullanıma eklemeler olması ve farklı kültürlerin etkisi neden olabilmektedir.

Geçmişte günümüze nazaran insanlar, bitkileri sadece tedavi amaçlı değil, eşya, boya, barınma, parfüm, esans, yapıştırıcı gibi birçok amaçla kullanmışlardır. Zaman içinde sözlü olarak aktarılan bu bilgilerden bazıları kaybolmuş, bazıları da insan ihtiyaçları değiştiği için terk edilmiştir. Var olan bu bilgilerin kaybolması aslında kültür mirası olan bu bilgilerin sonraki nesillere aktarılmasına engel olmaktadır. Bu mirası korumanın ve sonraki nesillere aktarılmasını sağlamanın bitkilerin korunmasını da arttıracığı düşünülebilir. Bu sayede zengin bir doğal çeşitliliğe ve çok sayıda endemik türe sahip ülkemizin de bitki mirasına daha fazla önem verilmesi sağlanabilir. Yapılan etnobotanik çalışmalar kültür mirasımızın korunmasına ve bitkilerin öneminin kavratılmasına sağladığı katkılardan dolayı önemli çalışmalardır.

Ula ilçesinde yapılan bu etnobotanik çalışması da kültür mirasımızın korunmasına ve bitkilerin öneminin kavratılmasına sağladığı katkılardan dolayı önemlidir.

Muğla ili ve çevresi geçmişten günümüze sayısız medeniyete ev sahipliği yapmış, bu tarihi birikimden izler taşıyan ayrıca sahip olduğu bitki örtüsü bakımından da doğal bir zenginliğe sahiptir. Yörede yapılacak ya da yapılmış olan etnobotanik çalışmalar bize bitki kullanımının insan hayatına etkisini ve katkısını göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Bu çalışmalar tamamlandığında kültürel mirasın kalıcı olması sağlanmış, bitkilerin önemi kavranmış, bitkilerin sayısız kullanım şekli öğrenilmiş ve sonraki nesillere aktarılması sağlanmış olacaktır. Bizim çalışmamızın da bu amaç doğrultusunda bir katkı da bulunacağını düşünmekteyiz.

## Teşekkür

Çalışmamıza verdiği katkılardan dolayı sayın hocamız Prof. Dr. Güven Görk'e teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- [1] Işık, S., Gönüz, A., Arslan, Ü. ve Öztürk, M. (1995). Afyon (Türkiye) İlindeki Bazı Türlerin Etnobotanik Özellikleri, *Ot Sistematik Dergisi*, 2(1): 161-166
- [2] Baytop, T. (1984). *Türkiye'de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 480 s.
- [3] Öztürk, M. ve Özçelik, H. (1991). *Doğu Anadolu'nun Faydalı Bitkileri (Useful Plants of East Anatolia)*, Semih Ofset ve Matb., Ankara.
- [4] Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl S ve Telci D. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı*, 11- 15 Ocak, ANKARA, 437-456.
- [5] Sayar, A., Öztürk, M., Güvensen, A. ve Özdemir, F. (1995). Muğla (Türkiye) İlindeki Bazı Türlerin Etnobotanik Özellikleri, *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 2,(1):151-160.
- [6] Davis, P.H., (1965-1988), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. I-X*. Edinburg Univ. Pres, Edinburg.
- [7] Yıldırım, Ş. (2004). Etnobotanik ve Türk Etnobotanigi, *İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 17: 167- 174.
- [8] Sağıroğlu, M., Arslantürk, A., Akdemir, Z.K., Turna, M. (2012). An ethnobotanical survey from Hayrat (Trabzon) and Kalkandere (Rize/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 5(1), 31-43.
- [9] Polat, R., Satıl, F., Çakılcıoğlu, U. (2011). Medicinal plants and their use properties of sold in herbal market in Bingöl (Turkey) district. *Biodicon*, 4(3):25-35.
- [10] Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Ulsan, M. D., Gür, F., Türkmen, Z. (2015). Investigations of ethnobotanical aspect of wild plants sold in Espiye (Giresun/Turkey) local markets. *Biological Diversity and Conservation*, 8(3), 114-119.
- [11] Kökçü, B., Esen, O., Uysal, İ. (2015). Medicinal plants sold in Çanakkale/Turkey city center herbalists. *Biological Diversity and Conservation*, 8(3), 80-91.
- [12] Korkmaz, M., Karakurt, E. (2015). An ethnobotanical investigation to determine plants used as folk medicine in Kelkit (Gümüşhane/Turkey) district. *Biological Diversity and Conservation*, 8(3), 290-303.
- [13] Kayabaşı, N. P., Tümen, G., Polat, R., Okulu, G. M. Y., Genç, B. (2016). Ethnobotanical studies on useful plants in Manyas (Balıkesir/Turkey) region. *Biological Diversity and Conservation*, 9(3), 58-63.
- [14] Ertuğ, F. (2004). Wild edible plants of the Bodrum Area (Muğla, Turkey), *Turkish Journal of Botany*, 28(1-2):161 174.
- [15] Tuzlacı, E. (2005). *Bodrum' da Bitkiler ve Yasam*, Nobel Yayın ve Dağıtım, İstanbul, 253 s.
- [16] Tuzlacı, E. (2002). Datça Yarımadası (Muğla) Florası ve Bu Yörede Halkın Yararlandığı Bitkiler, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir.

- [17] Tuzlacı, E. (2002). Baba Dağı florası ve Fethiye Yöresinde Halkın Yararlandığı Bitkiler Hakkında Yapılan Ön Araştırma, *14. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir.
- [18] Gurdal, B. ve Kultur, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Mugla, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, vol.146, pp.113-126.
- [19] Ceylan, O. (2017). Muğla İlinde Halkın Tedavi Amaçlı Kullandığı Bitkiler, *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 24, 1, 89-107
- [20] Öztürk, M., Seçmen, Ö., Gemici, Y. ve Görk, G. (1990). *Ege Bölgesi Bitki Örtüsü*, Sentez Limited, 175 s., İzmir.
- [21] Kalças, E., L. (1974). *Food From The Fields, Edible Wild Plants Of Aegean Turkey*, Bilgehan Matbaası Bornova, İzmir, 146 s.
- [22] Baytop, T. (1994). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*, Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara, 578 s.
- [23] Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. (2004). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*, 8. Baskı, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:116, İzmir, 386 s.
- [24] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1, İstanbul.1290s.
- [25] Akan.H.,Öz.Aydın.,Pekmez.,H. (2018). Ortaca (Muğla) Yöresinde Halk Arasında Kullanılan Bazı Bitkiler, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(9): 1168-1174, 2018



## Cytotoxic impacts of escin via inducing apoptosis and morphological changes on human prostate cancer cells

Canan VEJSELOVA SEZER \*<sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0002-3792-5993

<sup>1</sup> Eskişehir Technical University, Faculty of Science, Department of Biology, 26470, Eskişehir, Turkey

### Abstract

Prostate cancer is one of the most prevalent cancer types in males with a percentages of 28% worldwide. This cancer type comprises approximately 37% of the cancer incidences in males in Turkey. Recent cancer investigations are focused on natural agents with good potent for cancer therapy. Escin is one of the most investigated agents of that kind but its effects on human prostate cancer cell's morphology is not investigated in detail, yet. Thus, the aim of this study is to investigate the antiproliferative, cytotoxic and proapoptotic effects of escin, on prostate cancer cells Du-145. Cytotoxicity of escin on prostate cancer cells was investigated by using sulforhodamine B (SRB) assay and viability percentages and IC<sub>50</sub> value were detected from the elisa reader (BioTek Synergy HTX) results. For morphological changes, Du-145 cells treated with the IC<sub>50</sub> value of escin were evaluated under a confocal microscope (Leica, TCS SP5 II, Germany). Apoptosis profiles of cells were investigated by flow cytometry. According to the SRB findings escin reduced the viability of prostate cancer cells in dose-dependent manner and the IC<sub>50</sub> value was detected as 30.48 µM for 24 hours. On the confocal microscopy results it was confirmed that escin significantly changed the morphology of the treated cells as disintegrated and deformed nuclei, chromatin condensation, fragmentations in the cytoskeleton also shrinkage of prostate cells. Annexin-V technique indicated the apoptotic cell death triggered by escin in Du-145 cells. Based on the study results, it was concluded that escin changed the morphology of prostate cancer cells and induced apoptosis on prostate cancer cells.

**Keywords:** escin, cytotoxicity, prostate cancer

----- \* -----

## İnsan prostat kanseri hücreleri üzerinde escinin apoptozis ve morfolojik değişiklikleri tetikleyici sitotoksik etkileri

### Özet

Prostat kanseri, dünya çapında % 28'lik bir oranla erkeklerde en sık görülen kanser türlerinden biridir. Bu kanser türü, Türkiye'de erkeklerde görülen kanser vakalarının yaklaşık % 37'sini oluşturmaktadır. Son kanser araştırmaları, kanser tedavisi için potansiyele sahip doğal ajanlara odaklanmıştır. Escin, bu özelliğinden dolayı en çok araştırılan ajanlardan biridir, ancak insan prostat kanseri hücresinin morfolojisi üzerindeki etkileri henüz ayrıntılı olarak araştırılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı escinin Du-145 insan prostat kanseri hücreleri üzerindeki antiproliferatif, sitotoksik ve proapoptotik etkilerini araştırmaktır. Escinin prostat kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksitesisi sulforhodamine B (SRB) testi ile incelenmiştir ve eliza plaka okuyucu (BioTek Synergy HTX) sonuçlarından canlılık yüzdeleri ve IC<sub>50</sub> değeri saptanmıştır. Morfolojik değişiklikler için escinin IC<sub>50</sub> değeri ile inkübe edilmiş olan Du-145 hücreleri, bir konfokal mikroskop (Leica, TCS SP5 II, Almanya) altında değerlendirilmiştir. Hücrelerin apoptotik profilleri akış sitometrisi ile araştırılmıştır. SRB bulgularına göre escin, prostat kanseri hücrelerinin canlılığını doza bağlı olarak azaltmış ve IC<sub>50</sub> değeri 24 saat için 30,48 µM olarak tespit edilmiştir. Konfokal mikroskopi sonuçlarında, escin ile muamele edilmiş hücrelerin morfolojisinde, parçalanmış ve deforme olmuş çekirdekler, kromatin yoğunlaşması, hücre iskeletindeki fragmentasyonlar ve hücre büzülmesi şeklinde önemli değişiklikler saptanmıştır. Annexin-V tekniği, Du-145 hücrelerinde escinin apoptotik hücre ölümünü tetiklediğini

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905412598747; Fax.: +90 222 320 49 10; E-mail: cananveyselova@gmail.com

göstermiştir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında, escinin insan prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik etki göstererek morfolojik değişikliklere neden olduğu ve apoptozisi indüklediği saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** escin, sitotoksisite, prostat kanseri

## 1. Introduction

*Aesculus hippocastanum* is a beautiful plant grown worldwide and known as horse chesnut tree. The horse chesnut tree has resistance to harsh environmental conditions [1]. It has wide range of usage from decoration to medicinal purposes [2]. The extracts of varying parts of horse chesnut tree have been used traditionally for the treatment of various diseases like rheumatism, gastrointestinal diseases and haemorrhoids as well as venous insufficiency disease and edema. The multipurpose properties of horse chesnut are attributed to its board range ingredients like escin, quercetin, kaempferol, fraxin and esculin [3]. Escin of the ingredients is reported as the main active substance imply to the therapeutic activities. The synonym of escin is polyhydroxyolean-12-ene 3-omonodesmosides and it has two different forms, alpha and beta [1].  $\beta$ -escin has been reported as more active form of escin and it is used in the pharmaceuticals [4]. Beneficial properties like anti-inflammatory, anti-edematous, venous contractile, hypoglycaemic and anti-obesity activity make escin preferable and useful in medical and aesthetic fields [5-8]. Additionally, studies imply to use of escin as an anticancer agent in vitro and in vivo [9]. This active triterpenoid saponin, as an ingredient of *Aesculus hippocastanum* seed extract, has been highly investigated for its biological properties as well as anticancer potency [10]. The antioxidant and biological effects of escin is investigated in many cancer cells [11-13]. Also, several *in vivo* studies have reported the anti-tumor and anti-inflammatory potentials of escin. In this study were examined potential cytotoxic and proapoptotic effects of escin on human prostate cancer (Du-145) cells as a model of prostate cancer that is the most common cancer in men as well as the main cause of the high mortality rates in cancer dependent deaths worldwide.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Du-145 cells were purchased from the American Type Culture Collection (Manassas, USA). Escin, Sulphorodamin B, fetal bovine serum, penicillin-streptomycin were from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), and RPMI-1640 was obtained from GIBCO (Grand Island, USA). Annexin-V and Dead Cell Assay Kit was purchased from (Merck, Millipore, Hayward, California, USA).

### 2.2. Sulphorodamin B viability assesment

Sulforhodamine B (SRB) assay was performed for testing the cytotoxicity of escin on prostate cancer cells. Briefly, Du-145 prostate cancer cells ( $5 \times 10^3$  cells/well) were seeded on 96-well plates for 24 h. Incubated cells were treated with various concentrations (1,56-100 $\mu$ M) of escin for 24 hours. After the incubation cells were washed in ice-cold phosphate-buffered saline (PBS), fixed with trichloroacetic acid (TCA) (10% in PBS) and incubated at 4°C for 24 hours. Then, cells were washed with distilled water and dried. Cells were incubated with SRB (50  $\mu$ L/well) in the dark for 45 min at room temperature. After incubation cells were washed with acetic acid (200  $\mu$ L) (1%) and allowed to air for 30 min. 200  $\mu$ L/well of Tris-base (10 mM, pH 10,5) was added and cells were incubated for 1 hours at room temperature. After the incubation absorbances were read on an elisa reader (BioTek Synergy HTX) at 540 nm. Viability percentages were calculated compared to the control cells and the IC<sub>50</sub> value was determined based on the viability percentages. Statistical significances were determined by using one way Anova, Tukey post test of Graphpad Prism 6.0.

### 2.3. Confocal microscopic evaluation

In order to determine the cytotoxic effects of escin on the morphology of Du-145 cells firstly were seeded on coverslips in six-well plates and were treated with the IC<sub>50</sub> value of escin for 24 hours. After the incubation cells were fixed with glutaraldehyde and double-stained with phalloidin and acridine orange. Stained cells were imaged under a confocal microscope (Leica, TCS SP5 II, Germany).

### 2.4. Annexin-V staining

The induced cell death mode by escin on Du-145 cells was evaluated by Annexin-V staining technique. Firstly, control and escin-treated Du-145 cells were harvested in separate tubes (100  $\mu$ L/tube). 100  $\mu$ L of Annexin-V dye was added to the tubes. All samples were incubated for 20 minutes at room temperature in dark. Cells were analyzed by

using Muse™ Cell Analyzer (Merck, Millipore, Hayward, California, USA). This test was performed following the instructions of user manual of Muse® Annexin-V and Dead Cell Assay Kit.

### 3. Results

#### 3.1. SRB findings

Cytotoxicity investigation was performed by using SRB viability test. SRB findings indicate the half maximal inhibitory concentrations of escin on Du-145 human prostate cancer cells for 24 hours of application. The viability of Du-145 cells found to be decreased by concentration dependent manner. The IC<sub>50</sub> value of escin on Du-145 cells was detected as 30,48 μM. Statistically significant decrease on cell viability was detected on 100, 50, 25 and 12.5 μM escin concentrations for short-term application of 24 hours (Figure 1).

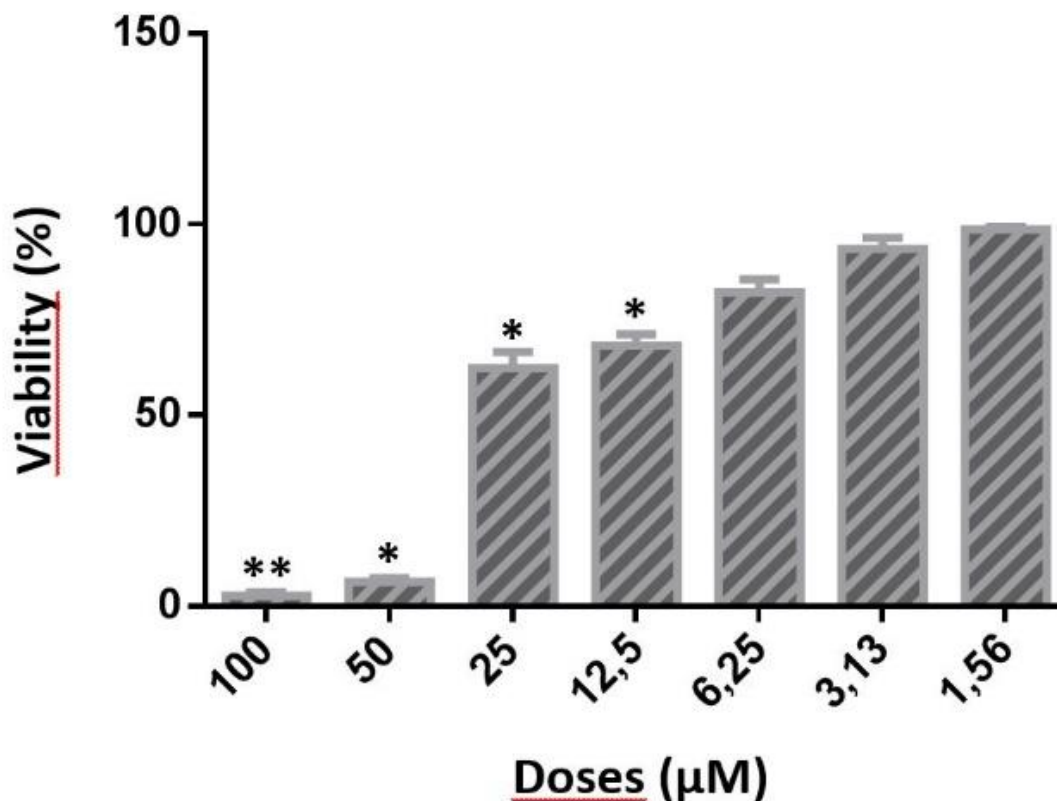


Figure 1: Viability percentages of Du-145 cells exposed to different escin concentrations for 24 hours. IC<sub>50</sub> value of escin on Du-145 cells for 24 hours was detected to be 30,48 μM

#### 3.2. Confocal microscopy findings

Confocal microscopy evaluations indicated significant changes on cell morphology of Du-145 cells exposed to the IC<sub>50</sub> (30,48 μM) concentration of escin for 24 hours. Compared to the control cell that were not treated with escin, test cells were found with altered morphology. Detected changes on Du-145 cell exposed to escin were holes on cytoskeleton, apoptotic cell shape (shranked and with blebbings on cell membranes) and chromatin condensation (Figure 2).

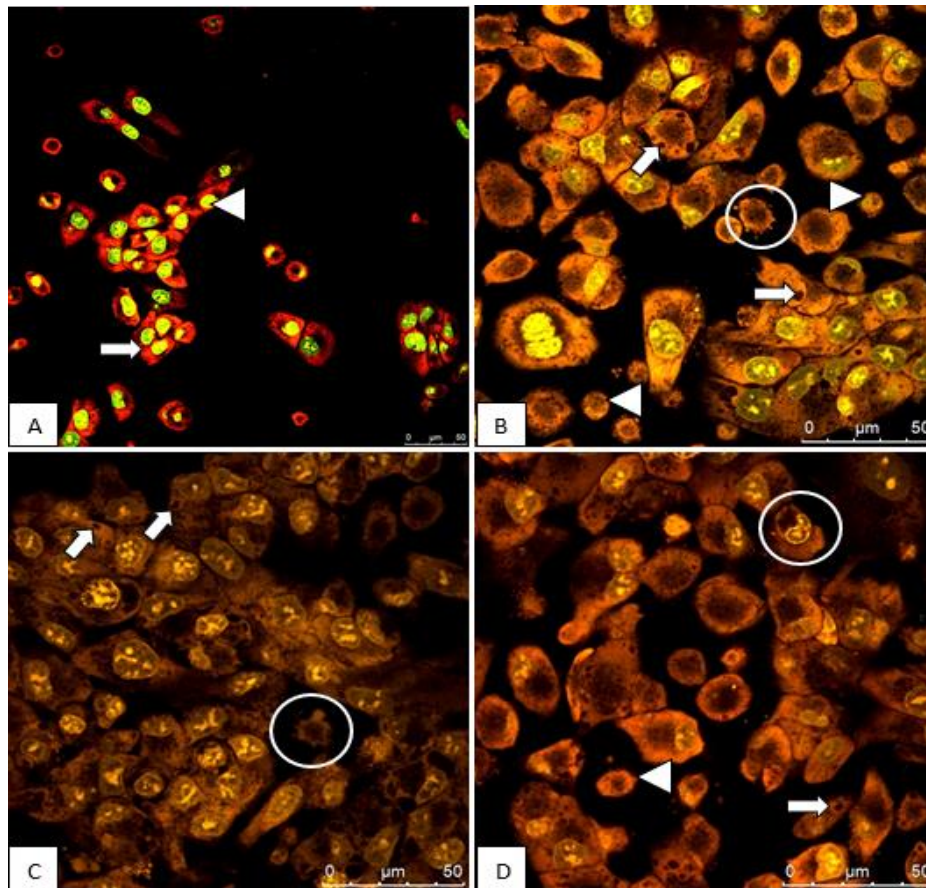


Figure 2: A. Untreated Du-145 cells: Arrow-Cytoskeleton, Arrowhead nucleus B, C, D. Morphological changes of Du-145 cells exposed to IC<sub>50</sub> value of escin for 24 hours. Arrow-holes on cytoskeleton, circle-apoptotic cell shape, arrowhead-shrunken cells.

3.1. Annexin-V staining results

Apoptotic profile of Du-145 cells was evaluated with Annexin-V technique. In the profile of Du-145 control cells the percentages were detected to be 95.70%, 3.57%, and 0.73% for live, early apoptotic and late apoptotic cells, respectively. These percentages for Du-145 cells exposed to IC<sub>50</sub> value of escin for 24 hours were determined as 61.60%, 30.05% and 8.2%, respectively for live, early apoptotic and late apoptotic cells (Figure 3). The triggered cell death mode by escin on Du-145 human prostate cancer cells was detected to be apoptosis.

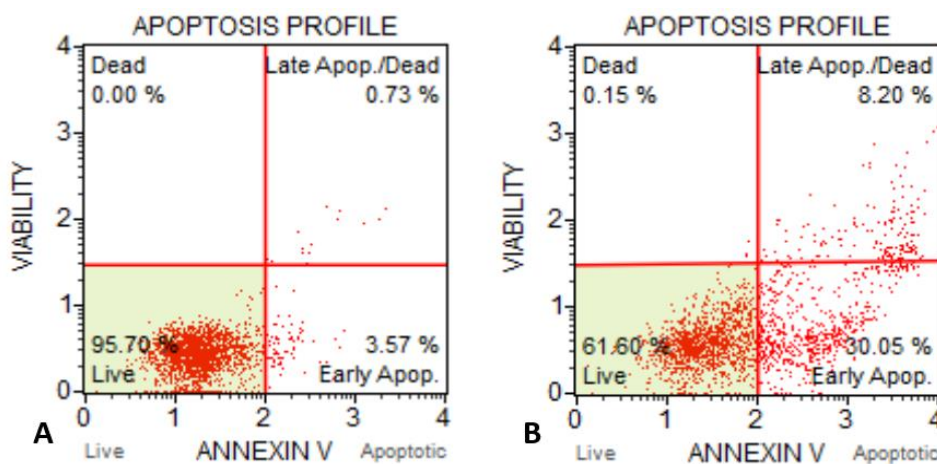


Figure 3: Apoptotic profiles of control (A-Live cells 95.70%, Early apoptotic cells 3.57%, Late apoptotic cells 0.73%) and Du-145 cells exposed to IC<sub>50</sub> value of escin for 24 hours (B-Live cells 61.60%, Early apoptotic cells 30.05%, Late apoptotic cells 8.2%).



#### 4. Conclusions and discussion

Escin showed its toxicity on Du-145 cells by causing growth inhibition in a dose dependent manner in short-term application of 24 hours. The viability of Du-145 cells treated with escin was decreased with the increase in applied escin concentration. Highest growth suppress was recorded at the highest dose of escin. In addition significant antiproliferative activity of escin was detected on dose range 100-12.5  $\mu\text{M}$  (Figure 1). The  $\text{IC}_{50}$  value of escin on human prostate cancer Du-145 cells was found to be 30.48  $\mu\text{M}$ . Studies conducted on different cell lines as human lung adenocarcinoma, pancreatic cancer, Jurkat, HepG2, C6, H-Ras 5RP7 cells reported the antiproliferative effect of escin [13-16]. Along with the growth inhibitory effect, escin has been reported to have proapoptotic activity on numerous studies [13,17]. In this study, it was showed that escin induced apoptosis on Du-145 cells at its  $\text{IC}_{50}$  concentration. This activity was indicated firstly based on the morphological changes detected after escin treatment for 24 hours. The results indicated that untreated Du-145 cells were with unchanged and compact morphology whereas escin treated cells were with significant alterations that were considered as strong indicators of apoptosis. These changes were cell shrinkage, membrane blebbings, chromatin condensation and holes on cytoskeleton of Du-145 cells (Figure 2). Investigations on escin based cell death mechanisms reported apoptosis to be the induced cell death type [13-15]. Natural product and their potential usage in cancer treatment was investigated by different studies and results imply to the strong basis of natural products and escin for new therapeutics [17]. The findings considered apoptosis to be preferred cell death mode induced by agents with anticancer potential [18, 19]. Based on the data, in this study we investigated apoptotic profiles of Du-145 cells treated with escin for 24 hours. Apoptotic profiles of control cells showed that 95.70% of Du-145 cells were alive, whereas approximately 4% of these cells underwent apoptosis. The percentage of viable cells in Du-145 cells exposed to  $\text{IC}_{50}$  concentrations of escin for 24 hours was reduced to 61.60% and the percentage of total apoptotic cells was detected to be approximately 38% (Figure 3). Escin caused early apoptosis in Du-145 cells at a percentage of 30.05% and late apoptosis at 8.2%. The triggered apoptosis type and apoptotic death stage by escin, have reported to be concentration and cell type dependent [9]. This imply to the information that the detected  $\text{IC}_{50}$  value of escin in Du-145 cells have caused early apoptosis significantly but the case with other escin concentrations required to be investigated. All investigation results of this study confirm the cytotoxic, antiproliferative and proapoptotic activities of escin on Du-145 human prostate cancer cells. Consequently, escin can be proposed for drug designing studies with all theranostic capabilities for cancer therapy agent.

#### References

- [1] Sirtori, C. R. (2001). Escin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacol. Res.*, 44, 183-193.
- [2] Gallelli, L. (2019). Escin: a review of its anti-edematous, anti-inflammatory, and venotonic properties. *Drug. Des. Devel. Ther.*, 13, 3425-3437.
- [3] Bombardelli, P. M. & Griffini, A. (1996). *Aesculus hippocastanum* L. *Fitoterapia*, 67 (6), 483-511.
- [4] Matsuda, H., Li, Y. & Yoshikawa, M. (2000). Possible involvement of 5-HT and 5-HT<sub>2</sub> receptors in acceleration of gastrointestinal transit by escin Ib in mice. *Life Sci.* 66, 2233-2238.
- [5] Satoh, S., Kreutz, R., Wilm, C., Ganten, D. & Pfitzer, G. (1994). Augmented agonist-induced Ca(2<sup>+</sup>)-sensitization of coronary artery contraction in genetically hypertensive rats. Evidence for altered signal transduction in the coronary smooth muscle cells. *J. Clin. Investig.* 94, 1397-1403.
- [6] Facino, R. M., Carini, M., Stefani, R., Aldini G. & Saibene, L. (1995). Anti-elastase and antihyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch. Pharmazie* 328, 720-724.
- [7] Cengiz, M., Ayhancı, A. & Kutlu, H. M. (2020). Investigation into the protective effects of escin on blood cells and cyclophosphamide-induced bone marrow toxicity in rats. *BŞEÜ Fen Bilimleri Dergisi.* 7 (2): 730 – 738.
- [8] Waller, G. R. & Yamasaki, K. (1996). Saponins Used in Traditional and Modern Medicine. 1 ed., *Springer*, Boston, MA.
- [9] Cheong D. H. J., Arfuso, F. & Sethi, G. (2018). Molecular targets and anti-cancer potential of escin. *Cancer Letters* 422: 1-8.
- [10] Gür, F., Cengiz, M., Kutlu, H. M., Cengiz, B. P. & Ayhancı, A. (2021). Molecular docking analyses of Escin as regards cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: In vivo and in Silico studies. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 411:115386.
- [11] Allen, D. J. & Khela, S. (2017). *Aesculus hippocastanum*. The IUCN Red List of Threatened Species, e.T202914A68084249.
- [12] Snieškienė, V., Baležentienė, L. & Stankevičienė, A. (2011). State of horse-chestnut, *Aesculus hippocastanum* L., in Lithuania: diseases and pest damages. *Ekologija.*, 57, 62–69.

- [13] Güney, G., Kutlu, H. M. & Iscan, A. (2013). The apoptotic effects of escin in the H-Ras transformed 5RP7 cell line. *Phytother Res.* 27, 900-905.
- [14] Çiftçi, G. A., Iscan, A. & Kutlu H. M. (2015). Escin reduces cell proliferation and induces apoptosis on glioma and lung adenocarcinoma cell lines. *Cytotechnology.*, 67, 893-904.
- [15] Wang, Y. W., Wang, S. J., Zhou, Y. N., Pan, S. H. & Sun, B. (2012). Escin augments the efficacy of gemcitabine through down-regulation of nuclear factor-kB and nuclear factor-kB-regulated gene products in pancreatic cancer both *in vitro* and *in vivo*. *J. Canc. Res. Clin. Oncol.*, 138, 785-797.
- [16] Ming, Z. J., Hu, Y., Qiu, Y. H., Cao, L. & Zhang, X. G. (2010). Synergistic effects of [beta]-aescin and 5-fluorouracil in human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells. *Phytomedicine: Int. J. Phytother. Phytopharm.*, 17, 575.
- [17] Cengiz, M., Kutlu, H. M., Peker Cengiz, B. & Ayhancı, A. (2020). Escin attenuates oxidative damage, apoptosis and lipid peroxidation in a model of cyclophosphamide-induced liver damage. *Drug. Chem. Toxicol.*, 24:1-8.
- [18] Deorukhkar, A., Krishnan, S., Sethi, G. & Aggarwal, B. B. (2007). Back to basics: how natural products can provide the basis for new therapeutics. *Expet. Opin. Invest. Drugs.*, 16, 1753-1773.
- [19] Erdoğan, M. K., Ağca, C. A. & Geçibesler, İ. H. (2020). The antiproliferative potential of isolated emodin and aloe-emodin from *Rheum ribes* on different cancer cell lines. *Biological Diversity and Conservation*, 31(2): 160-168.



## Contributions to the Turkish Fauna of Spider Flies (Diptera: Brachycera: Acroceridae)

Derya ÇİFTÇİ <sup>\*1</sup>, Abdullah HASBENLİ <sup>2</sup>, Üzeyir ÇAĞLAR <sup>3</sup>, Şirin Bahar CAN <sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0002-7670-4392; 0000-0002-2919-7594; 0000-0002-8401-015; 0000-0001-5787-5228

<sup>1</sup> Veysel Karani Mah. Siirt Üniversitesi Lojmanları 3E Blok No:8 Merkez, Siirt, Turkey  
<sup>2</sup> Gazi University, Science Faculty, Biology Department, 06500, Teknikokullar, Ankara, Turkey  
<sup>3</sup> Gazi University, Vocational High School of Health Services, Gölbaşı, Ankara, Turkey

### Abstract

The Acroceridae family, an endoparasite in true spiders, is also referred to as spider flies. In this study, the list of Turkish Acrocerid species was updated with the newly recorded acrocerid species. The specimens in Zoological Museum of Gazi University collected from different regions of Turkey at different times (1997-2013) were evaluated. *Acrocera laeta* Gerstäcker, 1856 from Konya in central Anatolia and *Ogcodes pallipes* Latreille in Olivier, 1812 from Ardahan in northern east of Anatolia are recorded for the first time. Now Turkish Acrocerid fauna are ten species. The distribution map of the species are given.

**Keywords:** Acroceridae, Anatolia, fauna, new records

----- \* -----

## Türkiye orumcek sinekleri faunasına katkılar (Diptera: Brachycera: Acroceridae)

### zet

Gerçek orumceklerde endoparazit olan Acroceridae familyası, orumcek sinekleri olarak da anılır. Bu alışmada, Türk Acrocerid tür listesi yeni kayıtlarla birlikte güncellenmiştir. Gazi Üniversitesi Zooloji Müzesi'nde bulunan Türkiye'nin farklı bogelerinden farklı zamanlarda (1997-2013) toplanan örnekler değerlendirilmiştir. *Acrocera laeta* Gerstacker, 1856 Orta Anadolu'da Konya'dan ve *Ogcodes pallipes* Latreille in Olivier, 1812 Kuzeydoğu Anadolu'da Ardahan'dan ilk defa kaydedilmiştir. Gunumuz Türk Acrocerid faunası on türdür. Türlerin dağılış haritaları verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Acroceridae, Anadolu, fauna, yeni kayıtlar

### 1. Introduction

Acroceridae (Diptera: Brachycera) family known as spider flies, small-headed flies or swollen-bodied flies have a small head and a humbled thorax. There is a great variety in size and colour among the taxa. Their mouth parts are well developed, partially developed or absent. Those with well-developed mouth parts have an elongated proboscis. In this way, they feed on the nectar of flowers. Some acrocerid species are known as good pollinators in the ecosystem [1, 2].

Adult flies are short-lived, from one to six weeks. The flies are active only on warm sunny days [1]. The phenological information of some acrocerid species has been presented in previous studies. Accordingly, some species start to appear from May (such as *Acrocera orbiculus* and *Ogcodes pallipes*), while some species start to appear from June (such as *Acrocera sanguinea* and *Ogcodes zonatus*). They continue to appear until the end of August [10, 17]. Acrocerid larvae are endoparasitoids of true spiders (Araneae). Acrocerid females lay their eggs independently of the

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905366523645; Fax.: +905366523645; E-mail: dcanpolat@gmail.com

host but in the habitat where the spider lives. After the larva hatches from the egg, it awaits its host. After the larva finds its host, it adheres to the spider's body and usually settles between the spider's book lung lamellae [1, 2, 3].

Acroceridae is represented about 500 species in the world [4]. Although some acrocerid species are widely distributed, they are less known because they are rare in the field [1]. There are 34 species belonging to this family in Europe [5]. Studies on the Turkish Acroceridae family are few and insufficient. Until this study, seven species were known from the Turkish fauna [6, 7, 8, 9]. In recent years, four species from Van province have been recorded. Three of them were new records [7, 8, 9].

The aim of this study is to determine an update Acroceridae fauna of Turkey.

## 2. Materials and methods

The material discussed here is from the collection in Zoological Museum of Gazi University (ZMGU, Ankara, Turkey). The specimens were collected individually with a sweep net.

The species with detailed locality information in published papers and examined materials in this paper are shown on the distribution map. The species that recorded from Turkey but with no clear locality information (for example, as recorded in Asia Minor) are not shown on distribution map. The map was created in ArcGIS 10.1 program.

Identification work was carried out with the keys provided by Nartshuk [1] and Sack [10].

The species are given in alphabetical order. The Palaearctic distribution of species was obtained from Nartshuk [6] and Schlinger [11].

## 3. Results

23 acrocerid specimens (14 males, 9 females) in the Zoological Museum of Gazi University were evaluated. As a result of the examination, 6 species belonging to 3 genera were determined. The species are as follows; *Acrocera* (s.str.) *laeta*, *A.* (s.str.) *orbiculus*, *Astomella hispaniae*, *Ogcodes pallipes*, *O. zonatus* and *Oligoneura murina*. Among these species *A. laeta* and *O. pallipes* are new records for Turkish fauna. A total of 9 species are now known from Turkey (Table 1). The distribution map of the species is shown in Figure 1.

### *Acrocera* (s.str.) *laeta* Gerstäcker, 1856

**Material examined:** Konya: Sarıveliler, Gevne Valley, 36°35'N, 32°32' E, 1170 m, 01.07.2001, ♀, leg. A. Hasbenli

**Remark:** *A. laeta* was described from the male holotype collected on Sardinia (Italy) and also was recorded from USSR (SET, TC (Ge)) and Kazakhstan [6]. This species is new record for Turkish fauna. The species were collected from Gevne Valley located in the Middle Toros Mountains in the south of Turkey. In the Gevne valley, juniper, maquis, riparian and rocky plant communities, black pine (*Pinus nigra*), red pine (*Pinus brutia*) and Taurus fir (*Abies cilicica* ssp. *isaurica*) forests, high mountain meadows, steppe and agricultural areas have seen [12].

### *Acrocera* (s.str.) *orbiculus* (Fabricius, 1787)

**Material examined:** Niğde: Çamardı, Demirkazık village, 37°52' N, 35°06' E, 1635 m, 11.07.2002, ♂, leg. A. Hasbenli

**Remarks:** *Acrocera orbiculus* is a Holarctic (North America) species and one of the most frequently collected acrocerid in Palaearctic (Europe, USSR, Tajikistan, Kazakhstan, China, Algeria) [6, 13]. This species was recorded Van province for the first time from Turkey by Kemal and Koçak [7]. The second record is given in this paper.

### *Acrocera* (*Acrocerina*) *sanguinea* Meigen, 1804

**Remarks:** The species is distributed in central and southern Europe [6]. It was recorded from Artos Mountain (Van) by Kemal and Koçak [8].

### *Astomella hispaniae* Lamarck, 1816

**Material examined:** Antalya: Gündoğmuş, 36°48' N, 32°00' E, 980 m, 23.06.1999, ♂, leg. A. Hasbenli; Konya: Hadim, Beyreli village, Gevne Valley, 36°51' N, 32°21' E, 1570 m, 01.07.2001, ♂, ♀, leg. A. Hasbenli and Ü. Çağlar.

**Remarks:** *Astomella hispaniae* is distributed in South Europe, Turkey, Syria and Algeria [6].

### *Ogcodes formosus* Loew, 1873

**Remarks:** Loew [14] based the original description of *Oncodes formosus* a holotype from Shahrud, Iran. After that, this species was recorded from Artos Mountain (Van, Turkey) by Koçak and Kemal [7].

### *Ogcodes hirtus* (Sack, 1936)

**Remarks:** The species was described from the female holotype collected on "Kurdistan ross." [10]. Schlinger stated the type locality of *O. hirtus* as "Kurdistan, Iran" and also gave the definition of the male [11]. Distribution information of the species was written as "south-eastern of Turkey" (? Turkey)" in the Catalogue of Palaearctic Diptera [6]. South-eastern region of Turkey has borders with the Kurdistan region in Iran. For this reason, we think that there may be confusion in the country names. Therefore, Turkey's record of this species is not clear. But we will consider the *Ogcodes hirtus* might be in Turkish fauna.

### *Ogcodes guttatus* Costa, 1854

**Remarks:** *O. guttatus*, the one nonendemic species, distributed the Palaearctic, Oriental and southern Ethiopian regions. One male specimen record, collected from İstanbul in 1925 leg. G. Edwards (deposited in BMNH), was published by Schlinger [11]. However, detailed locality information for the specimen was not given [11].

***Ogcodes pallipes* Latreille, 1811**

**Material examined:** Ardahan: Hanak, SW of Yünbüken village, 41°15' N, 42°51' E, 1990 m, 17.07.2011, ♀, leg. A. Hasbenli and D. Çiftçi

**Remarks:** This species is new record for Turkish fauna. It is distributed in Europe and western Asia [6, 11]. EUNIS habitat type of the examined specimen's locality is "E4.4- Calcareous alpine and subalpine grassland" based on Davies et al. [15]. See Davies et al. [15] for detailed characteristics of this habitat.

***Ogcodes zonatus* Ercihson, 1840**

**Material examined:** Adana: Pozantı, Hamidiye village, 37°31' N, 35°02' E, 1045 m, 21.07.2002, ♂, leg. A. Hasbenli; Eskişehir: Tepebaşı, NE of Takmak village, 39°43' N, 30°20' E, 931m, 05.07.2013, ♀, leg. A. Hasbenli and D. Çiftçi; Kayseri: Yahyalı, around Derebağı waterfall, 1280 m, 25.06.1997, ♀, leg. A. Hasbenli.

**Remarks:** This species is widely distributed, reaching from Mongolia to Europe and south into North Africa, though it is as yet unknown from Scandinavia [11]. The first record from the Turkey was given by Kemal and Koçak [7] from Van province. Tragacanthic *Astragalus* species were dominant in the locality where was collected [7]. The specimens in this study were collected from steppe between sparse trees and shrubs.

***Oligoneura murina* (Loew, 1844)**

**Material examined:** Adana: Tufanbeyli, Güzelim Village, 38°06' N, 36°10' E, 1490 m, 24.06. 2002, ♂, leg. A. Hasbenli; Aksaray: Güzelyurt, between İhlara-Yenipınar, 38°13' N, 34°17' E, 1364 m, 14.06.2005, ♂, leg. A. Hasbenli; Alanya: Aksu, 110 m, 06.05.1992, ♂, leg. A. Hasbenli; Artvin: Yusufeli, Barhal Brook, 764 m, 18.07.2004, ♀, leg. A. Hasbenli; Erzincan: Tercan, N of Karacakışlak village, 39°53' N, 40°25' E, 2082m, 19.07.2013, ♀, leg. A. Hasbenli and D. Çiftçi; Hatay: Dörtyol, Topaktaş Plateau, 36°49' N, 36°19' E, 1114 m, 26.06.2004, ♂, ♀, leg. Ü.Çağlar; Kayseri: Develi, Dereşimli Village, 38°12' N, 35°53' E, 1426 m, 26.06.2002, 3 ♂♂, leg. A. Hasbenli; Yeşilhisar, Güzelöz Village, 1260 m, 25.06.1997, ♀, leg. A. Hasbenli; Mersin: Mezitli, 7 km N of Fındıkpınarı, 36°57' N, 34°18' E, 1927 m, 08.07.2006, ♂, leg. A. Hasbenli; Niğde: Centrum, Bağlama Village, 38°15' N, 34°36' E, 1439 m, 29.06.2005, ♂, leg. A. Hasbenli; Ulukışla, between Darboğaz-Gümüüş villages, 37°28' N, 34°35' E, 1716 m, 30.06.2006, 1 ♂, leg. A. Hasbenli.

**Remarks:** The type locality was given by Loew in [16] as Kleinasien (Turkey) and Kos Island (Greece). In addition, the species was recorded from Greece, Armenia, Georgia and Iran [6].

### 3.1. Checklist of Acroceridae

A distributional checklist of Acroceridae (Diptera: Brachycera) of Turkey is presented as in Table 1.

Table 1. A distributional checklist of Acroceridae of Turkey

Species	Provinces and/or localities	References
<i>Acrocera laeta</i> Gerstäcker, 1856	Konya	This paper (new record)
<i>Acrocera orbiculus</i> (Fabricius, 1787)	Niğde, Van	This paper, [7]
<i>Acrocera sanguinea</i> Meigen, 1804	Van (Artos Mountain)	[8]
<i>Astomella hispaniae</i> Lamarck, 1816	Konya, Antalya	This paper, [6]
<i>Ogcodes formosus</i> Loew, 1873	Van (Artos Mountain)	[7]
<i>Ogcodes guttatus</i> Costa, 1854	Istanbul (not shown on the map)	[6, 11]
<i>Ogcodes hirtus</i> (Sack, 1936)	Not cited	Narsthuk, 1998; Sack, 1936; Schlinger, 1960
<i>Ogcodes pallipes</i> Latreille, 1811	Ardahan	This paper (new record)
<i>Ogcodes zonatus</i> Ercihson, 1840	Adana, Eskişehir, Kayseri, Van	This paper, [6, 7]
<i>Oligoneura murina</i> (Loew, 1844)	Adana, Aksaray, Alanya, Artvin, Erzincan, Hatay, Kayseri, Mersin, Niğde	This paper [6, 16]

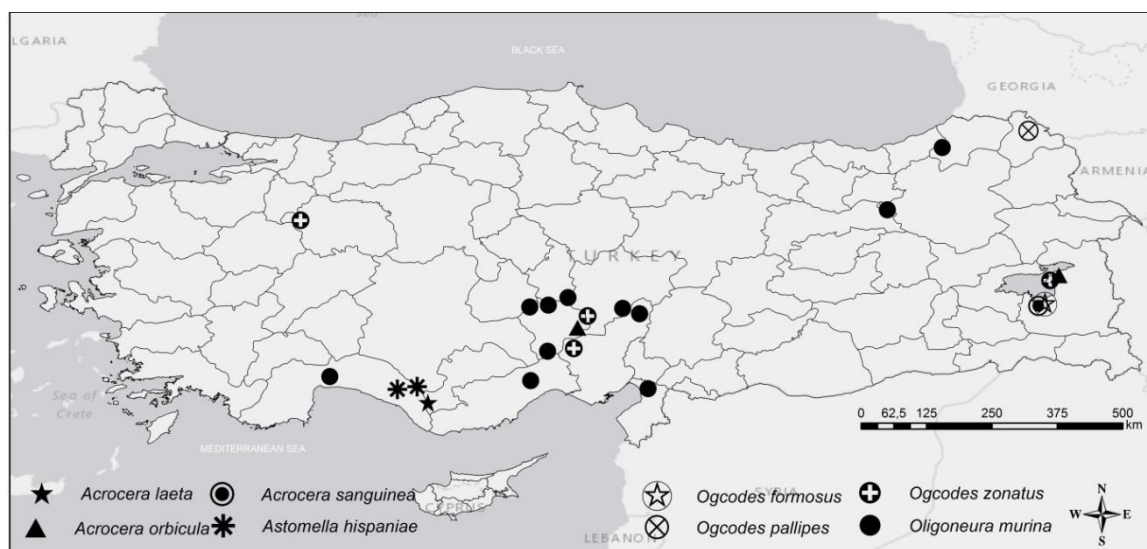


Figure 1. Distribution map of Turkish acrocerid species (*Ogcodes guttatus* not shown on the map).

#### 4. Conclusions and discussion

As mentioned in the section above, the species of the acrocerid are active on hot sunny days [1]. In parallel to it, it is observed that the species recorded from Turkey are gathered in May, June, and July. Turkey is located between the subtropical zone and temperate zone. Different types of climate (Mediterranean, Continental, Marmara and Black Sea climate) are observed due to factors such as Turkey being surrounded by seas on three sides, the extension of mountains, and landforms. Due to these climates, summer months are generally hot and sunny in Turkey [18]. Therefore, it is considered that there will be more acrocerid species in the period between May and August compared to most parts of the country.

During their larval stages, acrocerids are internal parasites of true spiders. Naturally, females lay their eggs in habitats where spiders can live. While the subfamily Panopinae is Mygalomorphae spiders parasites, Acrocerinae is observed as a parasite in different Araneomorphae families. Palaearctic acrocerids were reared (from the following spider's families: Ctenizidae and Theraphosidae (Mygalomorphae) - *Astomella* species; Araneidae, Theridiidae, Lycosidae, Agelenidae, Oxyopidae, Anyphaeidae, Clubionidae, Gnaphosidae, Thomisidae and Salticidae (Araneomorphae) - *Acrocera* and *Ogcodes* species [1]. These spider families and species, in which acrocerids are parasites, are also recorded and distributed in Turkey [19, 20].

When the general situation of the Turkish Acroceridae fauna is compared with the European Acroceridae fauna, it is observed that it is not at a sufficient and satisfactory level. When Turkey's favorable climatic conditions and rich vegetation, and the diversity and richness of the spider fauna are considered, the Turkish acrocerid fauna is predicted to be richer.

#### Acknowledgements

The authors wishes thank Dr. C. Kehlmaier (Germany) for supplying some papers.

#### References

- [1] Nartshuk, E. P. (1997). 2.32. Family Acroceridae. In: L. Papp & B. Darvas (Eds.), Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera 2: Nematocera and Lower Brachycera (pp. 469-485). Budapest: Science Herald.
- [2] Winterton, S.L. & Barraclough, D.A. (2017). Acroceridae. In: A.H. Kirk-Spriggs & B.J. Sinclair (Eds.), Manual of Afrotropical Diptera. Volume 2. Nematocerous Diptera and Lower Brachycera. Suricata 5 (pp. 981-993). Pretoria: South African National Biodiversity Institute.
- [3] Schlinger, E.I. (1987). The biology of Acroceridae (Diptera): True endoparasitoids of spiders. In: W. Nentwig (Eds.), Ecophysiology of Spiders (pp. 319-327). Berlin, Heidelberg, Newyork and Tokyo: Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-71552-5\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-642-71552-5_24)
- [4] Nartshuk, E.P. & Bagachanova, A.K. (2019). Small-Headed Flies (Diptera: Acroceridae) of Yakutia. *Far Eastern Entomologist*, 375: 7-10. <https://doi.org/10.25221/fee.375.2>
- [5] Pape, T., Beuk, P., Pont, A., Shatalkin, A., Ozerov, A., Woźnica, A. ... & de Jong, Y. (2015). Fauna Europaea: Diptera – Brachycera. *Biodiversity Data Journal* 3 (e4187): 1-31. <https://doi.org/10.3897/BDJ.3.e4187>
- [6] Narstshuk, E.P. (1988). Family Acroceridae. In A. Soos & L. Papp (Eds.), Catalogue of Palaearctic Diptera (pp. 186-196), Budapest: Akadémiai Kiado.

- [7] Kemal, M. & Koçak, A.Ö. (2014). New Acroceridae for the fauna of Turkey (Diptera). *Cesa News*, 98, 1-2.
- [8] Kemal, M. & Koçak, A.Ö. (2016). Annotated list of the Pterygota fauna of Artos Mountain (Van Province, East Turkey). *Cesa News*, 125: 1-37.
- [9] Koçak, A.Ö. & Kemal, M. (2014). Revised and advanced list of the dipteran species of Turkey. *Cesa News*, 98, 14-105.
- [10] Sack, P. (1936). 21. Cyrtidae (Acroceridae). In E. Lindner (Eds.), *Die Fliegen der palaearktischen Region* (pp. 1-40). Stuttgart: Schweitzerbartsche.
- [11] Schlinger, E.I. (1960). A Revision of the Genus *Ogcodes* Latreille with Particular Reference to Species of the Western Hemisphere. *Proceedings of the United States National Museum*, 111 (3429): 227–336.
- [12] Kartal, E. (2006). Gevne Vadisi ve Gökbel Yaylası AKD043. In G. Eken, M. Bozdoğan, S. İsfendiyaroğlu, D.T. Kılıç & Y. Lise (Eds.), *Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları Cilt 2* (pp. 372-374). Ankara: Doğa Derneği.
- [13] Kehlmaier, C. & Almeida, J.M. (2014). New host records for European Acroceridae (Diptera), with discussion of species limits of *Acrocera orbiculus* (Fabricius) based on DNA-barcoding. *Zootaxa*, 3780 (1): 135-152. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3780.1.5>
- [14] Loew, H. (1873). Beschreibungen europäischer Dipteren. Systematische Beschreibung der bekannten europäichen zweiflügeligen Insecten von Johann Wilhelm Meigen. Halle, 3: 1-320.
- [15] Davies, C. E., Moss, D. & Hill, M. O. (2004). EUNIS Habitat Classification Revised 2004, Report to the European Topic Centre on Nature Protection and Biodiversity. France, Paris: European Environment Agency, 307 pp.
- [16] Loew, H. (1844). Beschreibung einiger neuen Gattungen der europäischen Dipterenfauna. *Stettin. Entomologische Zeitung*, 5: 114-130, 154-173.
- [17] Chvála, M. (1980). Acroceridae (Diptera) of Czechoslovakia. *Acta Universita Carolinae-Biologica*, 12: 253-267.
- [18] Sensoy, S., Demircan, M. & Ulupınar, Y. (2016). Climate of Turkey. Ankara: Turkish State Meteorological Service, 17 pp.
- [19] Demir, H. & Seyyar, O. (2017). Annotated checklist of the spiders of Turkey. *Munis Entomology & Zoology*, 12 (2): 433-469.
- [20] Özkütük, R.C., Elverici, M., Kunt, K.B. & Kılıç, G. (2017). First faunistic record of *Tegenaria vankeerorum* Bolzern, Burckhardt & Hänggi, 2013 (Araneae: Agelenidae) from Turkey with description of unknown female. *Biological Diversity and Conservation*, 10 (3): 184-189.





## Heavy metal content screening in leaves and flowers of *Hypericum organifolium* by atomic absorption spectrometry

Asiye BERBER<sup>1</sup>, İsmühan POTOĞLU ERKARA<sup>\*2</sup>, Murat OLGUN<sup>2</sup>, Onur KOYUNCU<sup>2</sup>, Murat ARDIÇ<sup>2</sup>, Okan SEZER<sup>2</sup>

ORCID: 0000-0002-8340-4793; 0000-0001-5780-4999; 0000-0002-6234-455X; 0000-0002-0364-6638; 0000-0001-8734-3038; 0000-0001-7304-1346

<sup>1</sup> Eskişehir Osmangazi Univ, Faculty of Education, Department of Elementary Science Education, Eskişehir, Turkey

<sup>2</sup> Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Science and Letters, Department of Biology, Eskişehir, Turkey

<sup>3</sup> Eskişehir Osmangazi University, Agricultural Faculty, Field Crop Department, Eskişehir, Turkey

### Abstract

Atomic absorption spectrometry facilitates the reliable determination of mineral content during pharmaceutical quality control of medicinal plants. In the present work, measurable amounts of Fe, Ca, Cu, K, Mg, Mn, Na and Zn were detected in the leaves and flowers of *Hypericum organifolium* Willd. through atomic absorption spectrometry. Mean heavy metal content in the flowers and leaves of *H. organifolium* was, in descending order, Ca > Mg > K > Na > Fe. Ca was present in higher concentrations in the flowers (11157.24 ppm) and leaves (20132.24 ppm) of titled plant. Our results reveal that flowers are less suitable as target plant parts for metal accumulation than leaves.

**Keywords:** *Hypericum organifolium*, heavy metals, atomic absorption spectrometry

----- \* -----

## *Hypericum organifolium*'un yaprak ve çiçeklerindeki ağır metal içeriğinin atomik absorpsiyon spektrometresi ile belirlenmesi

### Özet

Atomik absorpsiyon spektrometresi, tıbbi bitkilerin farmasötik kalite kontrolü sırasında mineral içeriğinin güvenilir bir şekilde belirlenmesini kolaylaştırmaktadır. Bu çalışmada, *Hypericum organifolium* Willd'un yaprak ve çiçeklerinde atomik absorpsiyon spektrometresi ile ölçülebilir miktarda Fe, Ca, Cu, K, Mg, Mn, Na ve Zn bulunduğu tespit edilmiştir. *H. organifolium*'un yaprak ve çiçeklerindeki ortalama ağır metal içeriği sırasıyla Ca > Mg > K > Na > Fe olarak belirlenmiştir. Kalsiyum, çiçek (11157,24 ppm) ve yapraklarda (20132,24 ppm) en yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çiçeklerin yapraklara kıyasla çok daha düşük seviyede ağır metal birikimi gösterdiğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Hypericum organifolium*, ağır metaller, atomik absorpsiyon spektrometresi

### 1. Introduction

Especially in developing countries, environmental pollutants which are released to nature in an uncontrolled manner reach the structure of plants through water, soil and air. Metals have an important place among these pollutants. The use of metal based pollutant exposed plants by humans causes serious health problems such as kidney damage, renal failure and liver damage [1; 2; 3]. Iron, zinc, calcium, magnesium, copper, potassium, manganese, sodium were chosen as representative metals whose levels in the environment represent a reliable index of environmental pollution and human health. Some plants like as *Hypericum perforatum*, *Avena sterilis*, *Bifora radians*, *Chenopodium album*,

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905326338464; Fax.: +905326338464; E-mail: ismuhan@ogu.edu.tr

*Consolida regalis*, *Humulus lupulus*, *Reseda lutea*, *Solanum nigrum*, *Sorghum halepense* and *Xanthium strumarium* can then be used as biomonitors for the determination of trace element levels [4; 5; 6; 7].

*Hypericum* L., which is a member of the Hypericaceae (Guttiferae) family, is represented approximately 500 species all around to world. About 108 of these species are naturally distributed in Turkey [8; 9; 10; 11]. There has been many studies previously conducted on the *Hypericum* species, but very limited studies for *H. origanifolium*. According to the literature reviews, only one anatomical study on *H. origanifolium* was found [12]. One of the most important features of *Hypericum* taxa is their unique secondary metabolites. *Hypericum* taxa and their metabolites are widely used in traditional and modern medicine today [13]. In the light of phytochemical studies performed on *H. origanum*, flavonoids (myrcetin, rutin, quercetin, hyperoside), xanthones (iso-magniferin and mangiferin), naphthodiantrones (frangulin, emodin, proto-pseudohypericin, pseudohypericin and phenolicin) and phenolic acids have been determined at the aerial parts of the plant [14; 15; 16; 17; 18; 19; 20].

Data available on the biological activity of *H. origanifolium* is also limited to a few previous reports that have demonstrated their cytotoxic, antiproliferative, antimicrobial, antibacterial, antiyeast and antioxidant activities [18; 19; 20; 21; 22; 23; 24; 25; 26]. In the light of literature data, any studies on the heavy metal content of *H. origanifolium* not determined.

The main purpose of this study is to determine the heavy metal content in extracts obtained from the flowers and leaves of *H. origanifolium* by atomic absorption spectrometry. We hope that the relationship between the heavy metal amounts in *H. origanifolium* leaves and flowers will be reference for future studies.

## 2. Materials and methods

*H. origanifolium* Willd. was collected around of Eskişehir, Turkey. *H. origanifolium* Willd. Sivrihisar, Tekören village, 1100 m. June 2003 (OUFE 10334). The plant was identified according to Flora of Turkey and the East Aegan Islands [8; 27; 28].

For the solid samples with a nitric acid (Merck, Darmstadt, Germany)–perchloric acid (Merck, Darmstadt, Germany) digestion was used for mineralizing. The dried flowers and leaves of *H. origanifolium* were extracted for the solution phase as described previously and analyzed for Fe, Zn, Ca, Mg, Cu, K, Mn, Na (Merck AAS standard solutions), using Hitachi (180-70) Polarized Zeeman flame atomic absorption spectrometry [29; 30]. All precautions were taken to prevent metal contamination, i.e. samples were cleaned with 2% HNO<sub>3</sub>, rinsed in distilled water and baked at 600°C. All samples were analyzed in triplicate and the mean values were calculated. In order to increase the reliability of the measurements during the study, the instrument was calibrated at every 10 readings.

The flame atomic absorption spectrometry (FAAS) instrumental and operating conditions that provided the best sensitivity for the determination of metal content are detailed in Table 2.1.

Table 2.1. FAAS instrumental parameters employed to determine metals

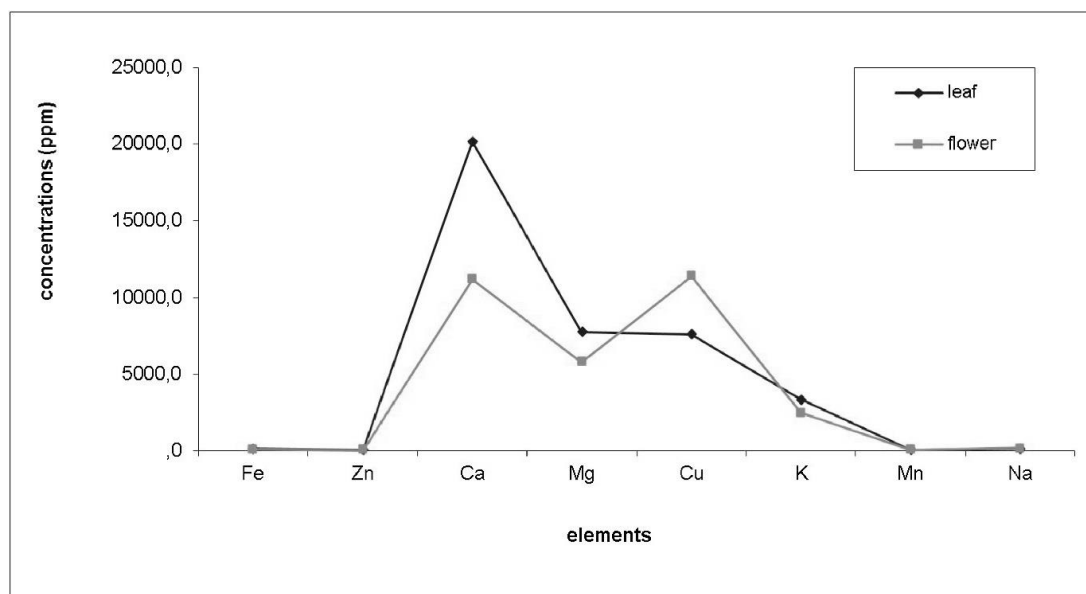
Elements	Flame type	Burner height (mm)	Wavelength (nm)	Slit width (nm)	Lamp Current (mA)	Fuel gas (1 min <sup>-1</sup> )
Fe	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	248.3	0.2	10	2.3
Zn	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	213.8	1.3	10	2.0
Ca	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	12.5	422.7	2.6	7.5	2.6
Mg	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	285.2	2.6	7.5	1.6
Cu	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	324.8	1.3	7.5	2.3
K	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	766.5	2.6	10	2.3
Mn	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	279.5	0.4	7.5	2.3
Na	Air-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7.5	589.0	0.4	10	2.2

## 3. Results

In this study, the heavy metal contents of the leaves and flowers of *Hypericum origanifolium* Willd. were investigated. These levels were obtained through flame atomic absorption spectrometry. Fe, Zn, Ca, Mg, Cu, K, Mn and Na were determined to be present in the samples. Metal concentrations in the leaves of *H. origanifolium* were found to be 130.25, 30.99, 20132.24, 7775.84, 7.60, 3361.53, 48.40, and 145.02 ppm; and in flower of *H. origanifolium* were found to be 93.64, 26.26, 11157.23, 5768.23, 11.37, 2454.99, 36.12, and 184.94 ppm for iron, zinc, calcium, magnesium, copper, potassium, manganese, sodium, respectively (Table 3.1. and Figure 3.1.).

Table 3.1. Element concentrations of *H. origanifolium* (ppm)

Elements	<i>H. origanifolium</i> (leaf)	<i>H. origanifolium</i> (flower)
Fe	130.25	93.64
Zn	30.99	26.26
Ca	20132.24	11157.23
Mg	7775.84	5768.23
Cu	7.60	11.37
K	3361.53	2454.99
Mn	48.40	36.12
Na	145.02	184.94

Figure 3.1. Relationship between leaf and flower metal concentrations of *H. origanifolium*

#### 4. Conclusions and discussion

In the light of obtained data from flame atomic absorption spectrometry analysis of the leaves and flowers of *Hypericum origanifolium*, Fe, Zn, Ca, Mg, K and Mn concentrations were recorded as higher in the leaf than in the flower, 130.25 > 93.64 ppm, 30.99 > 26.26 ppm, 20132.24 > 11157.23 ppm, 7775.84 > 5768.23 ppm, 3361.53 > 2454.99 ppm, 48.40 > 36.12 ppm, respectively. Cu and Na concentrations were observed to be higher in the flower than in the leaf 11.37 > 7.60 ppm, 184.94 > 145.02 ppm, respectively (Figure 1, Table 2).

The mean heavy metal content in the flowers and leaves of *H. origanifolium* was, in descending order, Ca > Mg > K > Na > Fe. Ca was present in higher concentrations in the flowers (11157.24 ppm) and leaves (20132.24 ppm) of the titled plant. Gomez *et al.* (2004) indicated that the CA concentration in *H. perforatum* was 100-500 ppm for the dried herb, as indicated in table 3.1. [4]. This situation shows that the Ca concentration of the leaf and flower of *H. origanifolium* is higher than *H. perforatum*. Kadioğlu *et al.* found the concentrations to be 495, 62.6, 11.1, 19,5 ppm for iron, manganese, copper, zinc, respectively [5]. In this study, the concentrations of Fe and Mn were higher, while that of Zn was lower than in the *H. perforatum* concentrations reported by Kadioğlu *et al.* (2005).

Findings obtained from elemental analysis studies on plants reveal that herbal foods are rich in especially Mg, Ca, Na and K [3]. The data obtained in our study coincide with the above findings. K, Mg and Ca which are represent the most abundant metal constituents of many plants were identified as the most abundant metals in *H. origanifolium* extracts. Internal and external factors have direct and indirect effects on the different metal concentrations of distinct parts of plants. These regional differences in metal content can occur due to many different reasons, such as genetic factors, growth conditions, analytical procedures and geographical variations. These factors are directly affected by the location differences where the plant samples are collected. Hence, there is an indirect relationship between sample locations and metal content can be mentioned. Though much is known about the functional role of a number of elements, the best foreseeable benefit for human health, mineral nutrition, lies in obtaining the correct amount of supplementation in the right form at the right time. High or low levels of Ca, Cu, Zn, Mn, K and Mg may invite many disorders [3]. These elements also play a part in neurochemical transmission, as well as serving as constituents of biological molecules, as a cofactor for various enzymes such as NAD(P)H oxidase, Ferroxidase, Alcohol dehydrogenase and in a variety of different metabolic processes.

High amounts of Ca are expected one way or another, as it is one of the most common minerals of the soil, from where it is readily absorbed into the plants. Iron is one of the important elements for the human body and is involved in vital activities such as hemoglobin formation, oxygen and electron transfer. Zinc and Copper, on the other hand, are involved in many different vital processes such as being important components of enzymatic and redox systems. For this reason, they have an important place among the elements that should be found regularly in the diet [6]. Also, the consequences show that most of these herbal plants contain vital elements for human metabolism and are also essential for growth and development as well as for the prevention and cure of diseases.

While many investigations into the quality values of medicinal plants are being reported in the current literature [7], less emphasis has been made on the metal content of herbal products. Metallic elements are constituent plant compounds demonstrating biological activity as essential or toxic agents in metabolism. Thus, the application of metal monitoring as a pattern recognition method in medicinal herbs is a promising tool for their characterization.

Chemotaxonomy is one of the most important tools that help classify plant taxa. The field of study of chemotaxonomy is to reveal the chemical content similarities and differences between different taxonomic groups. In this context, determining the metal content of plants is extremely valuable for chemotaxonomic researches. Heavy metal levels are important pollutants for soil, water, plant, the environment and human health. Especially the accumulation of heavy metals in some plant taxa makes them a valuable tool in determining heavy metal pollution. Therefore, further investigations are also needed to determine interactions between the leaves and flowers in terms of heavy metals.

### Acknowledgements

This study was supported by Anatolia Science Academy in scope of the scientific project named as “Eskişehirde Doğal Yayılış Gösteren Bazı *Hypericum* L. Taksonlarının Vejetatif ve Generatif Organlarındaki Ağır Metal İçeriğinin Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile Belirlenmesi (in Turkish)”.

### References

- [1] [Shaw, D., Leon, C., Kolev, S. & Murray, V. (1997). Traditional remedies and food supplements. A 5-year toxicological study (1991-1995). *Drug Safety*, 17, 342-356.
- [2] Andrew, A. S., Warren, A. J., Barchowsky, A., Temple, K. A., Klei, L., Soucy, N. V., O'Hara, K. A. & Hamilton, J. W. (2003). Genomic and Proteomic Profiling of Responses to Toxic Metals in Human Lung Cells. *Environ. Health Perspect*, 111(6), 825-835.
- [3] Ajasa, A. M. O., Bello, M. O., Ibrahim, A. O., Ogunwande, I. A. & Olawore, N. O. (2004). Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria. *Food Chemistry*, 85, 67-71.
- [4] Gomez, M. R., Cerutti, S., Olsina, R. A., Silva, M. F. & Martinez, L. D. (2004). Metal content monitoring in *Hypericum perforatum* pharmaceutical derivatives by atomic absorption and emission spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34(3), 569-576.
- [5] Kadioğlu, I., Mendil, D., Sarı, H. & Hasdemir, E. (2005). Determination of Heavy Metal Levels in Some Weeds Collected from Tokat, Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 17(1), 564-568.
- [6] Özcan, M. M. & Akbulut, M. (2007). Estimation of minerals, nitrate and nitrite contents of medicinal and aromatic plants used as spices, condiments and herbal tea. *Food Chemistry*, 106, 852-858.
- [7] Gomez, M. R., Cerutti, S., Sombra, L. L., Silva, M. F. & Martinez, L. D. (2007). Determination of heavy metals for the quality control in argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1060-1064.
- [8] Robson, N. K. B. (1967). *Hypericum* L. – In Flora of Turkey and the East Aegan Islands (Ed. Davis PH) Vol. 2. Edinburgh University Press, p. 355.
- [9] Robson, N. K. B. (1977). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae): 1. Infrageneric classification. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany*, 5: 291-355.
- [10] Robson, N. K. B. (2012). Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) 9. Addenda, corrigenda, keys, lists and general discussion. *Phytotaxa* 72, 1-111.
- [11] Duman, H. & Çakır-Dindar, E. G. (2020). *Hypericum alacamdaglariense* (Hypericaceae), a new species from Turkey. *Phytotaxa* 470(2), 176-185.
- [12] Potoğlu Erkara, İ. & Tokur, S. (2004). Morphological and Anatomical investigations on some *Hypericum* L., species growing naturally in and around Eskişehir. *Trakya Univ J Sci* 5, 97-105.
- [13] Yaylacı, Ö. K., Özgişi, K., Sezer, O., Orhanoğlu, G., Öztürk, D. & Koyuncu, O. (2013). Anatomical studies and conservation status of rare endemic *Hypericum sechmenii* Ocağ & Koyuncu (Sect: Adenosepalum) from Eskişehir-Turkey. *Journal of Selçuk University Natural and Applied Science*, 2(1), 1-11.
- [14] Mathis, C. & Ourisson, G. (1964). Chemo-taxonomic study of the genus *Hypericum*. III. The distribution of saturated hydrocarbons and monoterpenes from the essential oil of *Hypericum*. *Phytochem*, 3, 133-141.
- [15] Kitanov, G. M. & Nedialkov, P. T. (1998). Mangiferin and isomangiferin in some *Hypericum* species. *Biochem Syst Ecol*, 26, 647-653.

- [16] Makovests'ka, O. Y. (1999). Research of Biologically Active Substances of *Hypericum* L. species. Report VI. Sections olympia (Spach) Nyman, oampylopus Boiss. and organifolia Stef. *Farm Zh (Kiev)*, 6, 46-50.
- [17] Sirvent, T. M., Walker, L., Vance, N. & Gibson, D. M. (2002). Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the Pacific Northwest of the USA. *Econ Bot*, 56, 41-48.
- [18] Çırak, C., Radušienė, J., Ivanauskas, L. & Janulis, V. (2007). Variation of bioactive secondary metabolites in *Hypericum organifolium* during its phenological cycle. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(3), 197-203.
- [19] Öztürk, N., Tunçel, M. & Potoğlu Erkara, İ. (2009). Phenolic compounds and antioxidant activities of some *Hypericum* species: A comparative study with *H. perforatum*. *Pharmaceutical biology*, 47(2), 120-127.
- [20] Bertoli, A., Çırak, C. & Seyis, F. (2015). *Hypericum organifolium* Willd.: The essential oil composition of a new valuable species. *Industrial Crops and Products*, 77, 676-679.
- [21] Sakar, M. K., Tamer, A. U. & Tokur, S. (1988). Antimicrobial activities of some *Hypericum* species growing in Turkey. *Fitoterapia*, 59, 49-52.
- [22] Sakar, M. K. & Tamer, A. U. (1990). Antimicrobial activity of different extracts from some *Hypericum* species. *Fitoterapia*, 61, 464-466.
- [23] Güzey, G. (2007). Cytotoxic and Antiproliferative Effects of *Hypericum perforatum*, *Hypericum montbretii* and *Hypericum organifolium* Species on A549, HeLa and NIH3T3 Cell Cultures. PhD Thesis, Anadolu University Institute of Health Sciences, Eskişehir, Turkey.
- [24] Güzey, G., Ibadova, S., Öztürk, Y., Öztürk, N., Maggi, F., Sagratini, G., Ricciutelli, M. & Vittori, S. (2011). Antiproliferative and Antioxidant Effects of Three *Hypericum* Species of Turkish Origin: *H. perforatum*, *H. montbretii* and *H. organifolium*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5(1), 91-99.
- [25] Yaşar, Ş. N., Can, Ö. D., Öztürk, N., Sagratini, G., Ricciutelli, M., Vittori, S. & Maggi, F. (2013). Central nervous system activities of *Hypericum organifolium* extract via GABAergic and opioidergic mechanisms. *Phytotherapy Research*, 27(6), 877-884.
- [26] Boran, R. (2018). Investigations of anti-aging potential of *Hypericum organifolium* Willd. for skincare formulations. *Industrial Crops and Products*, 118, 290-295.
- [27] Robson, N. K. B. (1988). *Hypericum* L. – In Flora of Turkey and the East Aegan Islands (Eds. Davis PH, Mill RR and Tan K) Vol.10. Edinburgh University Press, p. 96.
- [28] Dönmez, A. A. (2000). *Hypericum* L. – In Flora of Turkey and the East Aegan Islands (Eds. Güner A, Özhatay N, Ekim T and Başer KHC) Vol.11. Edinburgh University Press, pp. 71-72.
- [29] Que Hee, S. S. & Boyle, Jr. (1988). Simultaneous Multielemental Analysis of Some Environmental And Biological Samples By Inductively Coupled Plasma Atomic Emission-Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 60(10), 1033-1042.
- [30] Kılıç, M., Ay, G., Koçbaşı, F., Kılıç, F.M. (2019). Determination level of heavy metal in Ayvalık Saltern using *Halimione portulacoides* (L.) plant. *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 100-106.



## Notes on biology of alfalfa weevil, *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae) in alfalfa fields of Iğdır/Turkey province

Celalettin GÖZÜAÇIK<sup>\*1</sup>, Neslihan GÜLTEKİN<sup>1</sup>, Antonio J. VELÁZQUEZ de CASTRO<sup>2</sup>

ORCID: 0000-0002-6543-7663; 0000-0002-0139-7391; 0000-0002-5357-4126

<sup>1</sup> Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 76100, Iğdır, Türkiye

<sup>2</sup> Museo de la Universitat de Valencia de Historia Natural, Calle Doctor Moliner, 50, E-46100 Burjassot, Spain

### Abstract

The adults of *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae) cause serious damages by feeding on the leaf and shoot parts of the clover plant (*Medicago sativa* L.), and the larvae on the capillary root and nodocytes. This article was carried out in the clover fields and laboratory in Iğdır province in 2019 – 2020 in order to determine the morphology and biology of *S. humeralis*. In the studies, in order to determine the egg stages of *S. humeralis*, a 1 – 4 cm deep topsoil containing clover plants in 5 different parts of the field, a soil plant with a depth of 20 cm and a surface area of 20 x 20 cm to determine the larva, pupa and adult stages were taken with the root with a shovel and examined in the laboratory. As a result of the studies, it was found that *S. humeralis* overwinters in egg, larva and adult stages. Female insects lay some of their eggs in October and November in the autumn, pause their egg laying with the decrease of the air temperature, and continue to lay eggs until the end of March and early May as the weather gets warmer. The eggs were laid on the soil surface in the root zone of the clover plant. While the larvae emerging from the eggs laid in early October are active in the soil until the beginning of November, they spend the winter without feeding until the end of March to the beginning of April as the weather gets colder. The larvae that come out of the eggs laid in the late April – early May and enter the pupa stage in the late May – June. Natural deaths start in April – May in adults who spend the winter, a new generation of adults start to emerge from June and the emergence continues until mid – July. From August to mid – October, the new generation adults spend their rest in the soil around the plant roots. In the studies, it was understood that *S. humeralis* produce a generation a year.

**Keywords:** *Sitona humeralis*, biological notes, alfalfa, Iğdır

----- \* -----

### Iğdır ili yonca alanlarında yonca zararlısı, *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae)'in biyoloji üzerine notlar

### Özet

*Sitona humeralis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae)'in erginleri yonca bitkisinin (*Medicago sativa* L.) yaprak ve sürgün kısımlarında, larvaları ise kılcal kök ve nodozitelerde beslenerek ciddi zararlar oluşturmaktadır. Bu makalede, *S. humeralis*'in morfolojisi ve biyolojisini belirlemek amacıyla 2019 – 2020 yıllarında Iğdır ili yonca tarlaları ve laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmalarda, *S. humeralis*'in yumurta dönemlerini belirlemek amacıyla, tarlanın 5 farklı yerinde içinde yonca bitkilerinin de bulunduğu 1 – 4 cm derinliğindeki yüzey toprağı, larva, pupa ve ergin dönemlerinin belirlenmesi için 20 cm derinliğinde ve 20 x 20 cm yüzey alanına sahip toprak bitki köküyle birlikte kürek yardımıyla alınmış ve laboratuvarında incelenmiştir. Çalışmalar sonucunda, *S. humeralis* kışı yumurta, larva ve ergin dönemlerinde geçirdiği belirlenmiştir. Dişi böcekler yumurtalarının bir kısmını sonbaharda ekim-kasım aylarında bırakmakta, hava sıcaklığının düşmesiyle birlikte yumurtlamaya ara vermekte havaların ısınmasıyla birlikte mart sonu ve mayıs ayı başlarına kadar yumurta bırakmaya devam etmektedir. Yumurtalar yonca bitkisinin kök bölgesine toprak yüzeyine bırakılmaktadır. Ekim ayı başlarında bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar kasım ayı başlarına kadar toprak

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905334728425; Fax: +904762230049; E-mail: celalettin.gozuacik@igdir.edu.tr

© Copyright 2021 by Biological Diversity and Conservation

Geliş tarihi: 09.02.2021; Yayın tarihi: 15.04.2021

BioDiCon. 958-0221

içerisinde aktifken, havaların soğumasıyla birlikte mart sonu nisan ayı başına kadar beslenmeden kışı geçirmektedir. Nisan sonu – mayıs başlarında, ilkbaharda bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar ise mayıs sonu-haziran ayında pupa dönemine girmektedir. Kışı geçiren erginlerde nisan-mayıs aylarında doğal ölümler başlamakta, haziran ayından itibaren yeni nesil erginler çıkmaya başlamakta ve çıkış temmuz ortalarına kadar devam etmektedir. Ağustos'tan ekim ortalarına kadar yeni nesil erginler bitki kökleri civarında toprak içerisinde dinlenerek geçirmektedir. Çalışmalarda *S. humeralis*'in yılda bir nesil verdiği anlaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Sitona humeralis*, biyolojik notlar, yonca, Iğdır

## 1. Giriş

Yonca (*Medicago sativa* L.), baklagiller (Fabaceae) ailesinde yer alan, derin ve güçlü kök sistemine sahip, çok yıllık önemli bir yem bitkisidir [1]. Yonca sahip olduğu derin kök sistemi sayesinde toprağın havalanmasını ve gevşemesini sağlamakta, erozyonun kontrol edilmesine önemli katkıda bulunarak doğayı korumaktadır. Bu bitki yem bitkileri içerisinde en yüksek besin değerine sahiptir. Besicilikte et ve süt verimini %30'lara kadar arttırabilmekte ve ayrıca silo ve pelet yemi olarak da kullanılabilir [2]. Yonca, Türkiye'de 2019 yılı 641213 ha ekim alanıyla oldukça geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Iğdır ilinde ise, tarla bitkileri ekilişleri içerisinde toplam 19220 ha ekim alanı ile yaklaşık olarak %32'lik paya sahiptir [3]. Bakımının ve elde edilen kuru otunun maddi getirisinin yüksek oluşundan dolayı ekim alanları yıldan yıla artış göstermektedir. Yonca bitkisinin verim ve kalitesini olumsuz etkileyen zararlı böceklerden *Sitona* Germar (Coleoptera, Curculionidae) erginleri yonca bitkisinin yaprak ve tomurcuklarında, larvaları ise kök ve kök nodüllerinde beslenerek ciddi zararlar oluşturmaktadır [4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12]. *Sitona* türleri, Akdeniz ülkeleri ve Avustralya'da yonca tarımı yapılan alanlarda ana zararlı durumundadır [8; 13; 14; 15]. Aeschlimann [13], Güney Avrupa'da 20 *Sitona* türü bulunduğunu bu türler içerisinde *S. humeralis* ve *S. lineatus*'un baskın olduğunu, Dimitrov ve ark. [16; 17] ise, Bulgaristan yonca alanlarında *S. humeralis* ve *S. longulus*'u en önemli zararlılar olduğunu bildirmişlerdir. *Sitona humeralis* ülkemiz yonca alanlarında yapılan sürvey çalışmalarında bulunmuş [18; 19; 20; 21; 22] ve morfolojik tanımı yapılmıştır [23]. Ancak yonca alanlarında biyolojisiyle ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, Iğdır ili yonca alanlarında *S. humeralis*'in biyolojisini belirlemek amacıyla 2019 ve 2020 yıllarında yürütülmüştür.

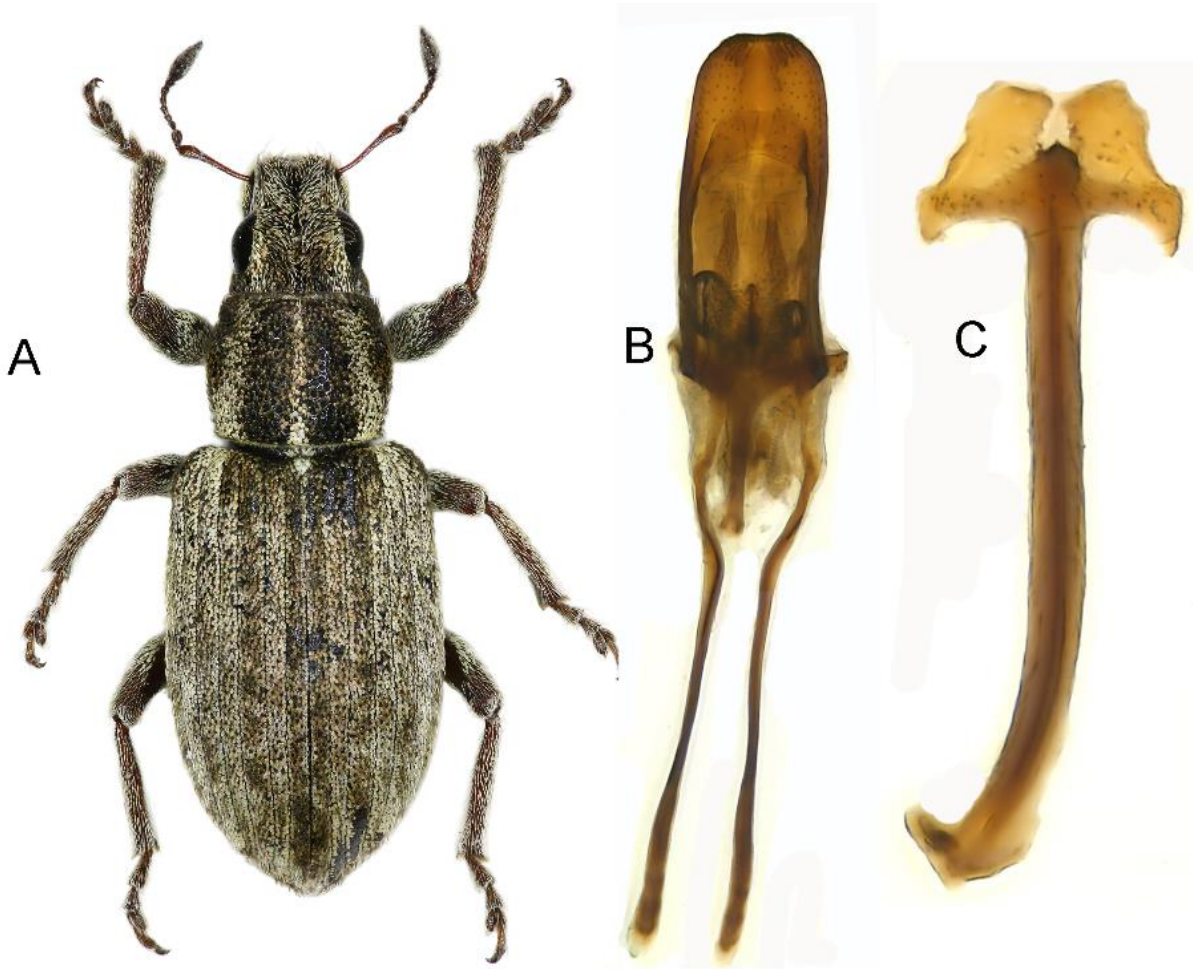
## 2. Materyal ve yöntem

Çalışmalar, Iğdır ili yonca plantasyonlarında *Sitona humeralis*'in yumurta, larva, pupa ve ergin dönemlerini takip etmek için 17.11.2019 (Taşburun), 03.01.2020 (Çalpala, Halıkışla ve Y. Çarıkçı), 04.03.2020 (Taşburun), 27.03.2020 (Yenimahalle), 02.04.2020 (Çalpala), 01.05.2019 (Hakmehmet), 18.07.2020 (Aşağı çiftlik), 21.08.2020 (Çalpala) ve 04.09.2020 (Taşburun) tarihlerinde yonca tarlalarında ve laboratuvarında yürütülmüştür. *Sitona humeralis*'in yonca tarlasında yumurtalarının bulunduğu dönemleri belirlemek amacıyla, tarlanın 5 farklı yerinde içinde yonca bitkilerinin de bulunduğu 1 m<sup>2</sup> alan 1 – 4 cm derinliğinde (yüzey) toprak kazılarak 3-5 litrelik cam kavanoz içerisine alınarak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen kavanozların üzerine su ilave edilmiş, 10 – 12 saat bekletilmiştir. Daha sonra her bir numune 2 veya 3 parçaya ayrılarak, bunlar sırasıyla bir huni üzerinde 0.9 mm'lik bir plastik elek içerisine alınarak huni yardımıyla bir beher içerisine yıkanmıştır. Yıkanan sıvı örnekler filtre kâğıdı/tülde süzülüş ve üstte kalan kısım içerisinde %10'lık NaCl bulunan 200 ml'lik tüplere alınmış, 2 saat sonra, çözeltinin yüzeyindeki kısım 15 cm çapında 2 kat filtre kâğıdına alınarak damıtılmış su ile birkaç kez yıkanarak NaCl'den arındırılmıştır. Filtre kâğıdı üzerinde kalan kısım stereomikroskop altında incelenerek *S. humeralis* yumurtaları tespit edilmiştir [24]. Bununla birlikte mart ayında toplanan erginler (5♀, 5♂) yonca bitkisi ile birlikte laboratuvarında kültüre alınarak yumurtaları elde edilmiştir. Larva, pupa ve ergin dönemlerinin belirlenmesi için tarlanın 5 farklı yerinde yonca bitkisi merkez alınarak 20 x 20 cm yüzey alanı ve 20 cm derinliğinde bir toprak bloğu kürek yardımıyla alınmıştır [25]. Alınan toprak örnekleri yerinde incelendikten sonra 5 kg'lık şeffaf poşetler içerisine laboratuvara getirilmiş, 1 m<sup>2</sup>'lik bez üzerine dağıtılarak larva ve pupa dönemleri incelenmiştir. İnceleme tamamlandıktan sonra larva ve pupaların ergin dönemlerini elde etmek amacıyla 5 litrelik cam kavanozlarda kültüre alınmıştır. Toplanan *S. humeralis* erginleri ılık suda 24 saat bekletilerek yumuşatılmış ve yapıştırma kartları üzerine yapıştırılmış, aynı zamanda genital kısımları tanımlamak için diseksiyon yapılarak Leica marka mikroskoba takılan Canon 70D DSLR dijital fotoğraf makinesi kullanılarak fotoğraflanmıştır. Türün teşhisinde orijinal deskripsiyonlar, monograflar, anahtar ve yayınlanmış revizyonlar kullanılmıştır [26; 27]. Türün tanımı stereomikroskop, ölçümleri mikroskoba takılı oküler mikrometre yardımı ile yapılmıştır.

## 3. Bulgular

*Sitona humeralis* Stephens, 1831, Coleoptera takımının Curculionidae familyasının Entiminae Schoenherr, 1823 altfamilyasının Sisonini Gistel, 1848 tribüsü içerisinde yer alan *Sitona* Germar, 1817 cinsine ait bir türdür. Çalışmalarda elde edilen sonuçlarla birlikte, türün yayılışı ve konukçu bitkileri aşağıda verilmiştir.





Şekil 1. A- *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (♀), B- aedeagus, C- spiculum gastrale

### 3.1. Morfoloji

Dişi ortalama 4,8 mm (4,6 – 5,0 mm), erkek ortalama 4,3 mm (3,9 – 4,5 mm) vücut uzunluğuna sahiptir. Integument siyah, coxa koyu kahverengi, femur, tibia ve anten kahverengidir. Vücudun dorsali çoğunlukla oval (ovate) ve ventrali mızrak (lanceolate) şeklinde parlak açık kahverengi, beyazımsı, sarımsı ve grimsi pul ile yatık kahverengimsi ve beyaz setalarla kaplıdır. Sarımsı, beyazımsı pullar vücudun ventral kısmı, gözün dorsal kenarı, pronotumun dorsalinin ortasında boyuna ince ve lateral kısımlarında ise çok daha geniş bir şerit şeklinde oluşturmaktadır. Bu beyazımsı pullar elytrada scutellum, 5. – 11. interstriaların basal kısmından neredeyse apikale kadar şerit şeklinde uzanmaktadır. Setalar rostrumun dorsal ve apical kısmında, elytranın posterior kısmında yarı kalkık ve daha uzundur. Bu setaların birkaçı kirpik şeklinde göz üzerine uzanmıştır. Hortumun genişliği başın genişliğinden ½ katından biraz daha geniş, dorso-lateral kenar belirgin ve kalkık, frons ve epifrons oldukça konkav, median frontal karina mevcut ve fronsun tabanından başın ön kısmına kadar derin bir yarık mevcut, bu yarık interocular pit kısmında oldukça derindir. Bu yarık circum ocular hizasını geçmez. Gözler hafifçe dışarı doğru taşmış, orta kısım hafif konveks yapıda olup, pronotumun apexinden hafifçe dardır. Scape tabanda hafifçe kavisli, uçta genişleyerek topuz oluşturmuş, funicle segmentlerinden 1. segment, 2. segmentin iki katı uzunlukta, oldukça iri ve konik yapıda, 3. – 7. segmentler birbirine benzer hafif konik yapıda, 7. segment biraz daha irice, anten topuzu uca doğru sivrileşen eni boyunun 1/3 kadar ve oblancoolate tiptedir. Her segmentte birkaç seta bulunmaktadır. Prothoraxın eni boyundan biraz dar, apical kısımdan geriye dışa doğru genişlemiş bir şekilde silindirik ve anterior kenarlarına doğru tetrecen daralmıştır. Anterior kenarının genişliği elytranın basal kısmının 2/3'ü genişliğindedir. Elytra'nın boyu eninden 1,5x kat daha uzun, lateral kenarları paralel ve geriye doğru daralır, humeri 6. – 9. interstrialar tabanında kaynaşmış ve oldukça belirgindir. Femur tibiaya doğru tedrici şekilde kalınlaşmış pazu şeklinde, uca doğru hafifçe daralır. Tibia hafif kavisli uca doğru tedricen genişlemiş ve uçta tarak şeklinde setalarla mevcuttur. 1. tarsomer 2.'den daha uzun, dorsal ve lateral kısımlarında uca doğru uzanmış uzun setalar bulunmakta (Şekil 1A). Erkek genital organlarından aedeagus, apikal kenara doğru geniş bir şekilde yuvarlanmış ve apical kısmı düzdür (Şekil 1B). Spiculum gastralenin apodeme oldukça kalın ve lamina üstte ayrık, taban kenarları aşağıya doğru uzamıştır (Şekil 1C).

### 3.2. Türkiye'deki yayılışı

Afyon, Balıkesir, Bilecik, Burdur, Bursa, Çanakkale, Denizli, Isparta, Yalova, İzmir, Kırklareli, Kütahya, Manisa, Muğla, Sakarya, Tekirdağ, Uşak [27], Adana, Ankara, Antalya, Bartın, Bolu, Çorum, Düzce, Eskişehir, Gaziantep, Hatay, İçel, Kahramanmaraş, Karabük, Karaman, Kayseri, Kırıkkale, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde [28], Ankara [23] Tekirdağ [19], Ankara, Konya [20], Bursa [21].

### 3.3. Türkiye'deki yayılışı Dünya'daki yayılışı

Avrupa: Arnavutluk, Avusturya, Belçika, Bosna Hersek, Bulgaristan, Beyaz Rusya, Hırvatistan, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Estonya, Finlandiya, Fransa (Corse, Monaco dahil), Büyük Britanya, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İtalya (Sardegna, Sicilia, San Marino dahil), Kazakistan (Ural Nehri'nin batısında), Letonya, Lüksemburg, Makedonya, Moldavya, Hollanda, Norveç, Rusya: Kuzey Avrupa Bölgesi, Polonya, Portekiz, Romanya, Sırbistan, Slovakya, Slovenya, İspanya (Cebelitarık dahil), Rusya: Güney Avrupa Bölgesi, İsveç, İsviçre, Türkiye, Ukrayna, Kuzey Afrika: Madeira Takımadaları (Selvagenler dahil), Asya: Azerbaycan, Ermenistan, Kıbrıs, Gürcistan, İran, Irak, Kırgızistan, Kazakistan (Ural Nehri'nin doğusu), Lübnan, Moğolistan, Mısır: Sina, Suriye, Tacikistan, Türkmenistan, Türkiye, Özbekistan, Rusya: Batı Sibirya [29].

### 3.4. Konukçu bitkiler

*Medicago sativa* L., *Vicia cracca* L., *V. Faba* L., *Lens esculenta* Medik. [28].

### 3.5. Biyolojik notlar

*Sitona humeralis*'in ergin, yumurta, larva ve pupası Şekil 2'de gösterilmiştir. Iğdır ili yonca alanlarında *S. humeralis* kışı yumurta, larva ve ergin dönemlerinde geçirdiği belirlenmiştir (03.01.2020 – Çalpala, Halıkışla ve Y. Çarıkçı). Dişi böcekler yumurtalarının bir kısmını sonbaharda ekim-kasım aylarında bırakmakta (17.11.2019- Taşburun), hava sıcaklığının düşmesiyle birlikte yumurtlamaya ara vermektedir. Ergin bireyler havaların tekrar ısınmasıyla birlikte mart sonu-nisan ayının başlarından (27.03.2020 – Yenimahalle, 02.04.2020 – Çalpala) itibaren yonca tarlalarında beslenmeye, çiftleşmeye ve mayıs ayı başlarına kadar yumurta bırakmaya devam etmektedir. Yumurtalarını yonca bitkisinin taç izdüşümünün bulunduğu güneş ışınlarının ulaşamayacağı toprak yüzeyinde toprak ve bitki atıkları arasına koymaktadır. Ekim ayı başlarında bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar kasım ayı ortalarına kadar toprak içerisinde aktifken, havaların soğumasıyla şubat ortalarına kadar inaktiftir (03.01.2020 – Çalpala, Halıkışla ve Y. Çarıkçı). Mart başlarında pupa dönemleri tespit edilmiştir (04.03.2020 – Taşburun). Nisan sonu-mayıs başlarında, ilkbaharda bırakılan yumurtalardan çıkan larvalar ise mayıs sonu-haziran ayında pupa dönemine girmektedir. İlkbaharda son dönemde bırakılan yumurtalar haziran - temmuz ayının ortalarında pupa olmakta ve temmuz ortalarında ergin bireyler çıkış yaparak yonca bitkisinin kök bölgesinde ve toprak içerisinde yazı geçirmektedir (18.07.2020 – Aşağı çiftlik, 21.08.2020 – Çalpala ve 04.09.2020 – Taşburun). Taşburun yonca tarlalarında mayıs sonu yapılan sörveylerde larvalar, yaklaşık 10 cm derinlikte yonca bitkisinin kök çevresinde bulunmuştur. Larvalar, buldukları toprak ve bitki kökleriyle birlikte laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarında larvalar ortalama bir ay sonra (09.07.2019) pupa dönemine girmişlerdir. Yonca tarlalarında *S. humeralis* yumurtalarına mayıs – ekim ayları arasında yapılan toprak örneklemelerinde rastlanılmamıştır. Kışı geçiren erginler nisan – mayıs aylarında doğal ölümler başlamakta, haziran ayından itibaren yeni nesil erginler çıkmaya başlamakta ve bu temmuz ortalarına kadar devam etmektedir. Ağustos'tan eylül sonlarına kadar yeni nesil ergin bireylerin bitki kök boğaz kısmında kitinizasyon ve melanizasyonu tamamlanana kadar bir süre topraktan çıkmadan burada bekledikleri tespit edilmiştir. Mart sonunda (30.03.2020 – Çalpala) laboratuvarında kültüre alınan 5 dişi böcekte toplam mayıs ortalarına kadar (17.05.2020) 1560 yumurta elde edilmiştir (1 dişi bireyden ortalama 312 yumurta). Yumurtaların 0,4 mm boyunda olduğu ölçülmüştür. Yumurtalar ilk bırakıldığında parlak şeffaf beyaz, daha sonra gri ve siyah renge dönüşmüştür. Ergin bireyler yonca alanlarında en yoğun olarak temmuz ortaları 126.8 birey/10 atrap (16.07.2019) ve ekim ayının 3. haftasında 132 birey/10 atrap (23.10.2019) bulunmuştur.

## 4. Sonuçlar ve tartışma

Çalışmalar sonucunda, Iğdır ili yonca alanlarında *S. humeralis* kışı yumurta, larva ve ergin dönemlerinde geçirdiği belirlenmiştir. Dişi böcekler yumurtalarını, sonbaharda ekim-kasım ve ilkbaharda mart sonu, mayıs aylarında bıraktığı, larvaların ekim – kasım ve nisan – mayıs aylarında aktif olduğu, erginlerin ağustos – ekim ayları arasında yazladığı ve yılda bir nesil verdikleri belirlenmiştir. Grigorov [30], *Sitona* türlerinin Bulgaristan'da yılda bir nesil verdiğini ve kışı farklı biyolojik dönemlerde geçirdiğini bildirmiştir. Pisarek [31], Polonya'da *S. humeralis*'in yumurtalarının embriyo gelişiminin 10 günde, larva gelişimini 30 günde ve pupa dönemini 14 günde olmak üzere yaşam döngüsünü 54 günde tamamladığını belirtmiştir. Aeschlimann [13], Fransa'nın Tréviers bölgesinde diğer aylara

kıyasla temmuz – ağustos ayları arası popülasyonun en düşük düzeyde olduğunu raporlamıştır. Papadopoulou [32], Yunanistan’da *S. humeralis*’in temmuz – ağustos aylarında yazladığı, mart – haziran ve eylül-kasım aylarında çiftleştiği ve yumurta bıraktığı, ekim ayında erginlerin en yüksek sayıya ulaştığını ifade etmiştir. Yapılan çalışmaların farklı habitatlarda olmasına rağmen, Iğdır ilinde yürütülen bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. *S. humeralis* yonca alanlarında öne çıkan bir tür olması, onun birçok iklim koşullarına uyum sağlama yeteneğinin olduğunu göstermektedir [33]. Bununla birlikte, yonca bitkisinde, larvalarının bitki kökünde beslenmesi ve ergin vücutlarının küçük olması nedeniyle yonca yetiştiricilerinin gözünden kaçmaktadır. Bu yüzden *S. humeralis* üzerinde daha detaylı biyolojik ve zararıyla ilgili araştırmaların yürütülmesi gerekmektedir.



Şekil 2. A, B- *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (ergin), C- yumurta, D- larva, E-pupa



**Kaynaklar**

- [1] Davis, P. H. (1978). Flora of Turkey and the east Aegean islands (vol. 6). Edinburgh, SCT: Edinburgh University Press.
- [2] Radovic, J., Sokolovic, D., & Markovic, J. (2009). Alfalfa-most important perennial forage legume in animal husbandry. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25(5-6), 465-475. [doi.org/10.2298/BAH0906465R](https://doi.org/10.2298/BAH0906465R)
- [3] Bitkisel üretim istatistikleri. (2019). Ankara, TR: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>.
- [4] Jackson, D. J. (1921). Bionomics of the weevils of the genus *Sitones* injurious to leguminous crops in Britain. Part I. *Annals of Applied Biology*, 7, 269-298. [doi.org/10.1111/j.1744-7348.1920.tb05310.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1920.tb05310.x)
- [5] Danthararayana, W. (1967). Host specificity of *Sitona* beetles. *Nature*, 213, 1153-1154.
- [6] Plaut, H. N. (1976). On the biology and phenology of the preimaginal stages of *Sitona limosus* Rossi (Col. Curculionidae) in Israel. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 78, 381-386.
- [7] El-Dessouki, S., & El-Awady, S. (1978). Studies on the development and bionomy of *Sitona lividipes* Fhs. (Col., Curculionidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 85, 275-280. [doi.org/10.1111/j.1439-0418.1978.tb04039.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1978.tb04039.x)
- [8] Aeschlimann, J. P. (1984). Distribution, host plants and reproductive biology of the *Sitona humeralis* Stephens group of species (Coleoptera, Curculionidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 98 (3), 298-309.
- [9] Syrett, P. (1992). Feeding range of *Sitona regensteinensis* Hbst. (Coleoptera: Curculionidae), a potential agent for biological control of *Cytisus scoparius* (L.) Link (broom) in New Zealand. *Biocontrol Science and Technology*, 2, 261-265. [doi.org/10.1080/09583159209355240](https://doi.org/10.1080/09583159209355240)
- [10] Skot, L., Timms E., & Mytton, L. R. (1994). The effect of toxin-producing *Rhizobium* strains, on larvae of *Sitona flavescens* feeding on legume roots and nodules. *Plant and Soil*, 163(1), 141-150.
- [11] Murray, P. J., & Clement R. O. (1998). Investigations of the host feeding preferences of *Sitona* weevils found commonly on white clover (*Trifolium repens*) in the UK. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 71(1), 73-79. Doi: [10.1007/BF02380571](https://doi.org/10.1007/BF02380571)
- [12] Cantot, P. (2001). Influence de quelques Papilionacées sur la ponte et le développement larvaire de *Sitona lineatus* (L.) (Coleoptera, Curculionidae). *Bulletin de la Societe Entomologique de France*, 1065, 441-447.
- [13] Aeschlimann, J. P. (1980). The *Sitona* (Coleoptera, Curculionidae) species occurring on *Medicago* and their natural enemies in the Mediterranean region. *Entomophaga*. 25, 139-153.
- [14] Goldson, S. L., Frampton, E. R., Barratt, B. I. P., & Ferguson, C. M. (1984). The seasonal biology of *Sitona discoideus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), an introduced pest of New Zealand lucerne. *Bulletin of Entomological Research*, 74, 249-259.
- [15] Goldson, S. L., Bourdot, G. W., & Proffitt, J. R. (1987). A study of the effects of *Sitona discoideus* (Coleoptera: Curculionidae) larval feeding on the growth and development of lucerne (*Medicago sativa*). *Journal of Applied Ecology*, 24, 153-161.
- [16] Dimitrov, D., Kontev, H., & Lecheva, I. (2006). Investigations on harmful and beneficial entomofauna in field peas under the conditions of Dobroudja region. *Plant science*, 43(5), 387-391.
- [17] Dimitrov, D., Kontev, H., & Lecheva, I. (2008). Investigations on harmful and beneficial entomofauna in common spring vetch under the conditions of Dobroudja region. *Plant science*, 45(1), 11-15.
- [18] Özbek, H. (1986). Erzurum'da yoncadaki böcek faunasının tespiti. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi*, 17(1-4), 1-20.
- [19] Kıvan, M., 1995. Tekirdağ ilinde baklagil yem bitkilerinde bulunan *Sitona* Gm. (Coleoptera, Curculionidae) türleri, konukçuları ve yayılışları üzerine ön araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 19(4), 299-304.
- [20] Tamer, A., Has, A., Aydemir, M., & Çalışkaner, S. (1997). Orta Anadolu Bölgesinde yemeklik baklagiller (mercimek, nohut, fasulye)'de görülen zararlı ve faydalı böcekler. *Bitki Koruma Bülteni*, 38 (1-2), 65-90.
- [21] Coşkuncu, K., & Gencer, N. (2010). Determination of the species of Curculionoidea superfamily on alfalfa fields (*Medicago sativa* L.) and their distribution in Bursa province of Turkey. *Journal of Biological & Environmental Sciences*, 4(12): 123-131.
- [22] Kaya, K. (2018). Hatay ili yonca üretim alanlarında bulunan böcek faunasının tespiti ve bazı türlerin popülasyon yoğunlukları. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(3): 352-359. [Doi: 10.24925/turjaf.v6i3.352-359.1747](https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i3.352-359.1747)
- [23] Sert, O., & Çağatay, N. (1994). Systematic studies on the some species of the genera *Sitona*, *Bangasternus* and *Larinus* (Coleoptera: Curculionidae). *Turkish Journal of Entomology*, 18(4), 223- 236.
- [24] Aeschlimann, J. P. (1975). A method for the extraction of *Sitona* (Col: Curculionidae) eggs from soil and occurrence of a Mymarid (Hym: Chalcidoidea) in the Mediterranean region. *Entomophaga*, 20(4), 405-408.
- [25] Aeschlimann, J. P. (1979). Sampling methods and construction of life tables for *Sitona humeralis* populations (Col., Curculionidae) in Mediterranean climatic areas. *Journal of Applied Ecology*, 16, 405-415.
- [26] Velázquez de Castro, A., Alonso-Zarazaga, M. A., & Outerelo, R. (2007). Systematics of Sitonini (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae), with a hypothesis on the evolution of feeding habits. *Systematic Entomology*, 32, 312-331.

- [27] Velázquez de Castro, A., Friedman, A. L. L., & Borovec, R., 2010. Sitonini of Israel (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae). *Israel Journal of Entomology*, 40: 71–108.
- [28] Lodos, N., Önder, F., Pehlivan, E., & Atalay, R., 2003. Faunistic studies on Curculionidae (Coleoptera) of Western Black Sea, Central Anatolia and Mediterranean Regions of Turkey. İzmir: Meta Basım.
- [29] Alonso-Zarazaga, M. A., Barrios, H., Borovec, R., Bouchard, P., Caldara, R., Colonnelli, E... Yunakov, N. N. (2017). Cooperative Catalogue of Palaearctic Coleoptera Curculionoidea. Retrieved from <http://weevil.info/content/palaearctic-catalogue>.
- [30] Grigorov, S. P. (1972). *Special entomology*. Sofia, BU: Zemisdat.
- [31] Pisarek, M. (2001). The effects of *Sitona humeralis* larvae on alfalfa *Medicago sativa* (L.) development. *Journal of Plant Protection Research*, 41: 52–56.
- [32] Papadopoulou, S. (2013). Determination of insecticide application time in alfalfa crops against *Sitona humeralis* Stephens, based on its biology and ethology. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27(2), 3665-3668. Doi: [10.5504 / BBEQ.2013.0014](https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0014)
- [33] Özdemir, S., Özkan, K. & Mert, A. (2020). An ecological perspective on climate change scenarios. *Biological Diversity and Conservation*. 13(3), 361-371. [Doi: 10.46309/Biodicon.2020.762985](https://doi.org/10.46309/Biodicon.2020.762985)



## Comparative pollen morphology studies on some species of Brassicaceae in Turkey

Ayşe ERDEN <sup>\*1</sup>, Yusuf MENEMEN <sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0002-8990-0616; 0000-0002-9546-7986

<sup>1</sup> Organized Industry Vocational and Technical Anatolian High School, Ministry of National Education, Yahşihan, Kırıkkale, Turkey

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Science and Literature, Kırıkkale University, Yahşihan, Kırıkkale, Turkey

### Abstract

Pollen aperture type, shape, size, polar axis length, equatorial axis length, P/E ratio, colpus length, thickness of the sexine and nexine, S/N ratio, ornamentation type, and lumen shape and width were determined by using light and scanning electron microscope. A multivariate analysis was carried out using the Gower's general similarity coefficient and UPGMA based on 3 qualitative and 8 quantitative pollen characters for 43 taxa belonging to 30 genera and 19 tribes. In all of the taxa studied, the pollen grains were generally small or medium-sized, tricolpate, except in *Matthiola longipetala*, with an inconspicuous aperture. The shape varied from prolate-spheroidal to perprolate. The exine ornamentation was microreticulate, reticulate, or macroreticulate. In some species, reticulate ornamentation was found together with microreticulate, and in some others, with macroreticulate ornamentation. It was seen that some taxa belonging to some genera placed near each other in the dendrogram partially supported some tribes, such as Brassicaceae, Alyseae, Sisymbrieae, and Camelinae. It is notable that some closely-related tribes were placed near each other on the dendrogram, which partially supports some previous molecular studies. In addition to exine ornamentation, the pollen size, shape, sexine and nexine thickness, and colpus length were the most useful characters. These characteristics can be used to identify and distinguish some genera, species and partly tribes within the family. They also provide detailed information on the pollen grains of some Brassicaceae taxa, some of which were studied herein for the first time, and this knowledge will be useful for comparisons in future pollen studies.

**Keywords:** Cruciferae, palynology, tribe

----- \* -----

### Türkiye'deki bazı Brassicaceae türleri üzerine karşılaştırmalı polen morfolojisi çalışmaları

#### Özet

Polen apertür tipi, şekli, boyutu, polar eksen uzunluğu, ekvatorial eksen uzunluğu, P/E oranı, kolpus uzunluğu, sekzin ve nekzin kalınlığı, S/N oranı, süslenme tipi, lümen şekli ve genişliği ışık ve taramalı electron mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir. 19 oymağa ait 30 cinsten 43 takson için 3 nitel ve 8 nicel polen karakterine dayalı olarak Gower's genel benzerlik katsayısı ve UPGMA kullanılarak çok değişkenli bir analiz gerçekleştirilmiştir. İncelenen tüm taksonlarda, polen taneleri genellikle küçük veya orta büyüklükte ve trikolpat olup, *Matthiola longipetala*'nın dışında belirgin bir apertüre sahiptir. Polen şekli prolat-sferoidalden perprolata kadar değişiklik göstermiştir. Ekzin süslenmesi mikroretikülat, retikülat veya makroretikülattır. Bazı türlerde retikülat süslenme mikroretikülat ile, bazı türlerde de makroretikülat süslenme ile birlikte bulunmuştur. Bazı cinslere ait taksonların dendrogram üzerinde birbirine yakın olarak konumlanması, Brassicaceae, Alyseae, Sisymbrieae ve Camelinae gibi bazı oymakların kısmen desteklendiğini göstermektedir. Dendrogramda birbirine yakın konumlanan yakın akraba olan bazı oymakların bazı önceki moleküler çalışmalarda kısmen desteklenmesi dikkate değerdir. Ekzin süslenmesine ek olarak, polen boyutu, şekli, sekzin ve nekzin kalınlığı ve kolpus uzunluğu en kullanışlı karakterlerdir. Bu karakterler familya içindeki bazı cinsleri, türleri kısmen de oymakları tanımlamak ve ayırt etmek için kullanılabilir. Bu karakterler ayrıca, bazıları burada ilk kez

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905055275679; Fax.: +9318-3572461; E-mail: ayse.pektas79@hotmail.com

incelenen bazı Brassicaceae taksonlarının polen taneleri hakkında ayrıntılı bilgi sağlamakta olup, elde edilen bu bilgiler gelecekteki polen çalışmalarında karşılaştırmalar için yararlı olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Cruciferae, oymak, palinoloji

## 1. Introduction

In recent years, molecular biology and DNA techniques have revolutionized the field of plant systematics and phylogenetics. Intensive studies have been carried out and significant changes have been observed in the phylogeny and classification of the family Cruciferae [1, 2, 3, 4]. The morphology of pollen grains is a significant tool in solving some taxonomic problems at the family, generic, or specific level, and has become part of the multidisciplinary and collaborative approach in plant systematics and evolution [5]. The number and position of the pores and furrows, complexity of the apertures, form of the sexine, and variation in the size and shape have taxonomic value [6]. The pollen morphology characteristics of the family Brassicaceae has provided an approach to the systematic relationships among the genera and species [7]. Khalik et al. [8] investigated the palynological taxonomy of the tribes in Brassicaceae and concluded that there was a close relationship between Hesperideae, Sisymbrieae, and Arabideae in terms of pollen shape and also indicated that the shape of the pollen grains varied more or less in the genera, depending on the tribe, but rarely varied in species of same genus.

The pollen morphology of the family Brassicaceae has been examined in various research in the literature [9, 10, 11, 12, 13]. Brassicaceae is a family of stenopalynous pollen grains with tricolpate and usually reticulate ornamentation [14]. The most common pollen shape in the family is prolate, and this type is present in all genera of Brassicaceae [8, 15]. Perveen et al. [16] described the pollen of the family Brassicaceae in Pakistan as radially symmetrical, isopolar, subprolate, prolate, or prolate-spheroidal, rarely oblate-spheroidal, tricolpate, rarely 4–8 colpate. Sagun and Auer [17] stated that pollen grains belonging to 7 genera of the tribe Camelinae (*Arabidopsis*, *Camelina*, *Capsella*, *Catolobus*, *Chrysochamela*, *Neslia*, *Noccidium*, and *Pseudoarabidopsis*) were isopolar, and prolate-spheroidal to prolate in shape, and had reticulate and microreticulate ornamentation. Anchev and Deneva [18] examined the pollen grains of 17 species of Brassicaceae and identified 2 types of exine ornamentation (reticulate and perforate), whereas Khalik et al. [8], in his study, grouped the exine ornamentation as microreticulate, reticulate, and macroreticulate according to luminal diameter measurements. Doğan and İnceoğlu [19], Brochmann [20], Khan [15], Pınar et al. [21], Mutlu and Erik [13] stated that pollen morphology may be useful in understanding the relationships among some genera of Brassicaceae. Mutlu and Erik [13] reported the existence of more than one pollen type in some sections of the genus *Arabis*, and pointed out the parallel evolution and disappearance of some other types. Doğan and İnceoğlu [19] reached the following conclusions from their pollen morphology study of 33 taxa of the genus *Isatis* L. in Turkey. Pollen grains of the examined taxa showed uniformity in terms of palynological characters. They were radially symmetrical, isopolar, tricolpate; oblate-spheroidal, prolate-spheroidal, or subprolate; circular in polar view; with reticulate ornamentation, and thick sexine. Some *Isatis* taxa were also found to have syncolpate, tetracolpate, and stephanocolpate pollen grains. Khalik et al. [8] studied the pollen morphology of some tribes in Egypt. The pollen grains of *Strigosella africana* were determined as prolate in shape and reticulate in exine ornamentation. Kızılpınar et al. [22] examined 5 species of the genus *Malcolmia* in Turkey. It was reported that the pollen of these taxa had tricolpate and reticulate ornamentation; the pollen shape was prolate-spheroidal or oblate-spheroidal. Karaismailoğlu [23] studied the pollen morphology of 11 taxa belonging to the genus *Aethionema* W.T. Aiton in Turkey, and described *Aethionema* pollen grains as mostly isopolar, bilaterally symmetrical, tricolpate, spheroidal, prolate, perprolate, and subprolate in shape, and micro- or macroreticulate in surface ornamentation. Atçeken et al. [30] reported that four *Aethionema* species in their study had reticulate pollen ornamentation but their muri were different each other in point of their palynological features.

The aim of the present study was to examine and verify the pollen morphological characteristics of certain tribes, and study the diversity and range of variation present among species, and use these data in the taxonomy of the Brassicaceae in Turkey.

## 2. Materials and methods

Pollen grains were obtained from dried herbarium specimens. The unopened buds of the specimens were squashed and the floral parts were removed and placed into a watch glass and examined using a few drops of water and dissection needle under a stereo-microscope. A list of voucher specimens of the studied taxa and their current classification according to Kiefer et al. [33]. are given in Table 1. Some pollen grains were transferred to the stubs, which had been previously prepared with double-sided adhesive tape for the SEM study. The stubs were then coated with gold for 5–6 min. Photographs of the pollen grains were taken using a JSM-6060 JEOL SEM (Tokyo, Japan) (Figure 2-4). The remaining pollen grains were acetolyzed according to the method of Erdtman [24, 25] and transferred onto slides using glycerine jelly, with the addition of safranin stain, to prepare the light microscope slides. After the glycerine jelly melted on the heating block, cover slips were added [26]. A Nikon light microscope (Tokyo, Japan) was used to take the measurements and photographs of the pollen grains (Figure 5-6).



The pollen aperture type, shape, size, polar axis length, equatorial axis length, P/E ratio, colpus length, thickness of the sexine and nexine, S/N ratio, ornamentation type, and lumen (lumina) shape and width were determined by measuring the maximum number of pollen grains (10–30) for each species and the mean values are given in brackets in Table 2. The palynological terminology followed was according to that of Erdtman [14] for the pollen size classification and that of Punt et al. [27] was followed for the other terminology.

A data matrix was prepared for the analysis, which included 3 qualitative and 8 quantitative pollen characteristics (pollen shape and size, polar axis length, equatorial axis length, P/E ratio, colpus length, sexine width, nexine width, S/N ratio, lumen width, and ornamentation type) for the examined taxa. The data were first converted into a similarity matrix using Gower's general similarity coefficient. The similarity matrix was then clustered using UPGMA clustering (Figure 1). The analyses were completed using the multivariate statistics package (MVSP).

Table 1. A list of voucher specimens of the studied taxa and their current classification

<b>Tribes</b>	<b>Species/Subspecies</b>	<b>Specimen collectors &amp; number</b>
Aethionemeae	<i>Aethionema armenum</i>	A.Erden 1072 ve Y.Menemen
Aethionemeae	<i>Aethionema dumanii</i>	A.Erden 1440 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Alyssum turkestanicum</i>	A.Erden 1103 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Odontarrhena sibirica</i>	A.Erden 1117,1056 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Meniocus linifolius</i>	A.Erden 1043 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Odontarrhena muralis</i>	A.Erden 1153 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Alyssum simplex</i>	A.Erden 1383 ve Y.Menemen
Alysseae	<i>Fibigia clypeata</i>	Eftal 1754
Anchonieae	<i>Matthiola longipetala</i> subsp. <i>bicornis</i>	A.Erden 1070 ve Y.Menemen
Arabideae	<i>Aubrieta libanotica</i>	A.Erden 1361 ve Y.Menemen
Arabideae	<i>Draba nana</i>	A.Erden 1365 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Brassica nigra</i>	A.Erden 1330 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Brassica elongata</i>	A.Erden 1129,1051,1390 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Crambe tataria</i>	A.Erden 1022,1037 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	A.Erden 1075 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Eruca vesicaria</i>	A.Erden 1231 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Hirschfeldia incana</i>	A.Erden 1142, 1108, 1027 ve Y.Menemen
Brassicaceae	<i>Sinapis arvensis</i>	A.Erden 1150 ve Y.Menemen
Calepineae	<i>Calepina irregularis</i>	A.Erden 1095 ve Y.Menemen
Camelineae	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	A.Erden 1238 ve Y.Menemen
Camelineae	<i>Camelina hispida</i>	A.Erden 1047,1110 ve Y.Menemen
Camelineae	<i>Camelina rumelica</i>	A.Erden 1119 ve Y.Menemen
Camelineae	<i>Neslia apiculata</i>	A.Erden 1242 ve Y.Menemen
Cardamineae	<i>Barbarea vulgaris</i>	A.Erden 1337,1340 ve Y.Menemen
Chorisporeae	<i>Chorispora tenella</i>	A.Erden 1283 ve Y.Menemen
Coluteocarpeae	<i>Microthlaspi perfoliatum</i>	A.Erden 1266 ve Y.Menemen
Conringieae	<i>Conringia orientalis</i>	A.Erden 1501 ve Y.Menemen
Descurainieae	<i>Descurainia sophia</i>	A.Erden 1169 ve Y.Menemen
Erysimeae	<i>Erysimum cuspidatum</i>	A.Erden 1220 ve Y.Menemen
Erysimeae	<i>Erysimum repandum</i>	A.Erden 1300 ve Y.Menemen
Erysimeae	<i>Erysimum smyrnaeum</i>	A.Erden 1135 ve Y.Menemen
Erysimeae	<i>Erysimum crassipes</i>	A.Erden 1054 ve Y.Menemen
Euclidieae	<i>Strigosella africana</i>	A.Erden 1116,1065 ve Y.Menemen
Hesperideae	<i>Hesperis bicuspidata</i>	A.Erden 1364 ve Y.Menemen
Isatideae	<i>Isatis quadrialata</i>	A.Erden 1052 ve Y.Menemen
Isatideae	<i>Isatis glauca</i>	A.Erden 1196 ve Y.Menemen
Lepidieae	<i>Lepidium draba</i>	A.Erden 1001,1049 ve Y.Menemen
Lepidieae	<i>Lepidium perfoliatum</i>	A.Erden 1094,1239 ve Y.Menemen
Sisymbrieae	<i>Sisymbrium altissimum</i>	A.Erden 1151,1200 ve Y.Menemen
Sisymbrieae	<i>Sisymbrium orientale</i>	A.Erden 1120,1514 ve Y.Menemen
Sisymbrieae	<i>Sisymbrium irio</i>	A.Erden 1452 ve Y.Menemen
Sisymbrieae	<i>Sisymbrium loeselii</i>	A.Erden 1241, 1003 ve Y.Menemen
Thlaspidiae	<i>Thlaspi arvense</i>	A.Erden 1354 ve Y.Menemen

### 3. Results

In this study, pollen morphology of 43 species, representing 30 genera of 19 tribes, belonging to the family Brassicaceae were investigated. The pollen aperture type, shape, size, polar axis length, equatorial axis length, P/E ratio, colpus length, thickness of sexine and nexine, S/N ratio, ornamentation type, lumen shape, and width were determined for each taxa (Table 2, Figure 2-6).

#### 3.1. Aperture type

In the taxa studied, the pollen grains were tricolpate, and only *Matthiola longipetala* had an inconspicuous aperture. The colpus was generally the widest in the equatorial axis and became narrower towards the poles.

#### 3.2. Pollen size

In the examined species, the polar axis length was between 10.9 and 35.97  $\mu\text{m}$  and the equatorial axis length ranged from 5.45 to 29.43  $\mu\text{m}$ . The smallest pollen grains among the studied species belonged to *Descurainia sophia*, in which the mean polar axis length was 13.32  $\mu\text{m}$  and the equatorial axis length was 8.47  $\mu\text{m}$ . The pollen grains of *Fibigia clypeata* had a mean polar axis length of 33.68  $\mu\text{m}$  and an equatorial axis length of 22.45  $\mu\text{m}$ , and were determined as the largest. It can easily be said that the pollen grains of the family were small-or medium-sized in general.

#### 3.3. Pollen shape

According to Erdtman [28], the ratio of the polar axis length to the equatorial axis length determines the shape of the pollen grains. Hence, a polar/equatorial axis (P/E) ratio between 0.88 and 1.14 is spheroidal, 1 and 1.14 is prolate spheroidal, 1.14 and 1.33 is subprolate, 1.33 and 2 is prolate, and  $>2$  is perprolate. The P/E ratio of the pollen of the studied species was between 1.06  $\mu\text{m}$  and 2.08  $\mu\text{m}$ , and the pollen shape differed from prolate-spheroidal to perprolate.

#### 3.4. Colpus length

In the pollen grains of the examined species, the colpus length was between 9.5 and 32.7  $\mu\text{m}$ . The shortest colpus was found in *Descurainia sophia*, while the longest was in *Fibigia clypeata*.

#### 3.5. Thickness of sexine and nexine, S/N ratio

Among the species, the sexine thickness was between 0.5  $\mu\text{m}$ , as in *Odontarrhena sibirica*, and 2.55  $\mu\text{m}$ , as in *Matthiola longipetala*. The nexine thickness was between 0.15  $\mu\text{m}$ , as in *Barbarea vulgaris*, and 0.82–1  $\mu\text{m}$ , as in *Brassica nigra*. The S/N ratio was the lowest in *Aethionema dumanii* (1.06–1.11  $\mu\text{m}$ ) and highest in *Lepidium perfoliatum* (5–5.33  $\mu\text{m}$ ).

#### 3.6. Ornamentation type, lumen (lumina) shape and width

In the pollen grains of Brassicaceae, the basic ornamentation type was reticulate. The reticulum was heterobrochate. The murus surface was smooth, slightly wavy, or sinuous. The lumen shape differed from circular to elliptical, elongated, or irregular. The width of the lumen diameter was generally large around the equatorial region, and smaller through the poles. According to the sizes of luminal diameter, 3 different types of exine ornamentation were determined [8]. If the lumen diameter is less than 1  $\mu\text{m}$ , the ornamentation is microreticulate, between 1 and 2  $\mu\text{m}$  is reticulate, and  $>2$   $\mu\text{m}$ , is macroreticulate.

Microreticulate exine ornamentation was seen in species of *Aethionema armenum*, *Aethionema dumanii*, *Meniocus linifolius*, *Odontarrhena muralis*, *Draba nana*, *Camelina rumelica*, *Neslia apiculata*, *Barbarea vulgaris*, *Descurainia sophia*, *Erysimum cuspidatum*, *Erysimum smyrnaeum*, *Lepidium draba*, *Lepidium perfoliatum*, and *Thlaspi arvense*, while macroreticulate ornamentation was only seen in *Sinapis arvensis*. In some of the other species, reticulate ornamentation was found together with microreticulate and in some species, it was with macroreticulate ornamentation.

#### 3.7. UPGMA analysis

The dendrogram obtained from the similarity matrix using the Gower's general similarity coefficient and UPGMA clustering method is presented in Figure 1, where it can be seen that some members of the genera placed near each other partially contributed to the formation of some tribal branches, such as Brassiceae, Alysseae, Sisymbrieae, and Camelinae.

Table 2. Pollen grain characteristics of the examined taxa belonging to the Brassicaceae

Taxa /Characteristics	Shape	Size	Polar axis length ( $\mu\text{m}$ )	Equatorial axis length ( $\mu\text{m}$ )	P/ E ( $\mu\text{m}$ )
<i>Aethionema armenum</i>	subprolate to perprolate	small	16.35-(18.62)-21.8	9.81-(11.89)-15.26	1.28-(1.58)-2.11
<i>Aethionema dumanii</i>	subprolate to prolate	small	16.35-(19.51)-25.07	10.9-(12.86)-14.17	1.23-(1.52)-1.91
<i>Alyssum turkestanicum</i>	subprolate to prolate	medium	26.16-(31.28)-34.88	20.71-(22.34)-25.07	1.20-(1.40)-1.63
<i>Meniocus limifolius</i>	prolate-spheroidal to prolate	small	17.44-(19.52)-23.98	11.99-(14.36)-18.53	1.14-(1.37)-1.63
<i>Odontarrhena muralis</i>	subprolate to prolate	small and medium	21.8-(25.07)-29.43	14.17-(16.25)-19.62	1.31-(1.54)-1.85
<i>Odontarrhena sibirica</i>	prolate to perprolate	small and medium	19.62-(24.87)-28.34	12.53-(14.91)-18.53	1.42-(1.67)-2.08
<i>Alyssum simplex</i>	subprolate to prolate	medium	26.16-(29.97)-35.97	18.53-(20.49)-25.07	1.25-(1.46)-1.83
<i>Fibigia chypeata</i>	subprolate to prolate	medium	29.43-(33.68)-35.97	19.62-(22.45)-27.25	1.28-(1.52)-1.83
<i>Matthiola longipetala</i>	prolate-spheroidal to subprolate	small and medium	22.89-(26.05)-29.43	17.44-(21.36)-23.98	1.09-(1.22)-1.33
<i>Aubrieta libanotica</i>	subprolate to prolate	small and medium	19.62-(25.83)-30.52	14.17-(17.66)-21.8	1.23-(1.47)-1.76
<i>Draba nana</i>	prolate -spheroidal to prolate	small and medium	19.62-(21.90)-26.16	11.99-(15.26)-19.62	1.11-(1.45)-1.81
<i>Brassica nigra</i>	subprolate to prolate	small and medium	22.89-(26.16)-30.52	15.26-(18.96)-22.89	1.28-(1.38)-1.50
<i>Brassica elongata</i>	subprolate to prolate	medium	25.07-(27.15)-33.79	16.35-(18.62)-27.25	1.24-(1.47)-1.62
<i>Crambe tataria</i>	subprolate to prolate	small and medium	23.98-(29.53)-31.61	19.62-(21.80)-23.98	1.15-(1.36)-1.55
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	subprolate to prolate	medium	25.07-(30.73)-35.97	16.35-(22.67)-29.43	1.18-(1.37)-1.52
<i>Eruca vesicaria</i>	prolate	small	15.26-(17.49)-20.16	10.9-(12.64)-15.26	1.32-(1.39)-1.60
<i>Hirschfeldia incana</i>	subprolate to prolate	small and medium	20.71-(26.92)-31.61	15.26-(18.53)-22.89	1.31-(1.45)-1.66
<i>Sinapis arvensis</i>	subprolate to prolate	small and medium	21.8-(28.83)-34.88	17.44-(20.11)-23.98	1.25-(1.43)-1.60
<i>Calepina irregularis</i>	subprolate to prolate	small and medium	21.8-(24.52)-27.25	15.26-(18.09)-20.71	1.21-(1.36)-1.52
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	subprolate to prolate	small	17.44-(20.27)-22.89	11.99-(14.22)-17.44	1.30-(1.43)-1.66
<i>Camelina hispida</i>	subprolate to prolate	small	19.62-(22.69)-25.07	13.08-(15.55)-17.44	1.25-(1.46)-1.75
<i>Camelina rumelica</i>	subprolate to prolate	small and medium	21.8-(25.96)-29.43	16.35-(18.33)-21.8	1.25-(1.42)-1.66
<i>Neslia apiculata</i>	subprolate to prolate	small and medium	20.71-(23.88)-30.52	14.17-(17.04)-19.62	1.18-(1.40)-1.55
<i>Barbarea vulgaris</i>	subprolate to prolate	small	17.44-(19.94)-21.8	10.9-(14.17)-16.35	1.21-(1.42)-1.80
<i>Chorispora tenella</i>	subprolate to perprolate	small	17.44-(19.83)-23.98	9.81-(13.02)-15.26	1.21-(1.55)-2.11
<i>Microrhizis perfoliatum</i>	subprolate to prolate	small and medium	20.71-(24.37)-28.34	16.35-(17.34)-18.53	1.25-(1.40)-1.66
<i>Conringia orientalis</i>	subprolate to prolate	small	17.44-(19.40)-22.89	14.27-(14.66)-15.26	1.21-(1.33)-1.61
<i>Descurainia sophia</i>	Prolate	small	10.9-(13.32)-15.26	5.45-(8.47)-10.9	1.33-(1.60)-2.00
<i>Erysimum cuspidatum</i>	subprolate to prolate	small and medium	16.35-(26.16)-30.52	13.08-(17.33)-20.71	1.25-(1.50)-1.73
<i>Erysimum repandum</i>	subprolate to prolate	small and medium	17.44-(24.41)-30.52	14.17-(17.65)-19.62	1.22-(1.38)-1.55
<i>Erysimum smyrnaeum</i>	subprolate to prolate	small	16.35-(22.19)-23.98	10.9-(14.66)-18.53	1.23-(1.53)-1.90
<i>Erysimum crassipes</i>	prolate -spheroidal to prolate	small	14.17-(16.05)-19.62	9.81-(11.39)-13.08	1.08-(1.41)-1.55
<i>Strigosella africana</i>	subprolate to prolate	small	16.35-(19.22)-21.8	10.9-(13.67)-16.35	1.21-(1.41)-1.66
<i>Hesperis bicuspidata</i>	prolate-spheroidal to prolate	small	17.44-(21.40)-25.07	11.99-(15.26)-19.62	1.11-(1.42)-1.76
<i>Isatis quadrialata</i>	subprolate to prolate	small and medium	22.89-(25.72)-29.43	15.26-(18.09)-20.71	1.27-(1.42)-1.53
<i>Isatis glauca</i>	subprolate to prolate	small and medium	22.89-(26.92)-30.52	16.35-(21.36)-23.98	1.11-(1.26)-1.46
<i>Lepidium draba</i>	subprolate to prolate	medium	29.43-(32.26)-35.97	19.62-(21.80)-23.98	1.31-(1.49)-1.83
<i>Lepidium perfoliatum</i>	subprolate to prolate	small and medium	18.53-(22.69)-27.25	14.17-(16.94)-20.71	1.13-(1.34)-1.53
<i>Sisymbrium altissimum</i>	prolate-spheroidal to prolate	small	16.35-(19.29)-22.89	11.99-(14.61)-16.35	1.06-(1.32)-1.45
<i>Sisymbrium orientale</i>	subprolate to prolate	small	15.26-(20.38)-25.07	10.9-(14.61)-17.44	1.26-(1.39)-1.64
<i>Sisymbrium irio</i>	subprolate to prolate	small	16.35-(21.01)-23.98	9.81-(13.67)-15.26	1.28-(1.54)-1.69
<i>Sisymbrium loeselii</i>	subprolate to prolate	small	16.35-(17.53)-18.53	9.81-(12.18)-15.26	1.21-(1.45)-1.77
<i>Thlaspi arvense</i>	subprolate to prolate	small and medium	17.44-(22.09)-29.43	14.17-(15.75)-19.62	1.23-(1.39)-1.57

Table 2. Continued

Taxa/Characteristics	Colpus length (µm)	Sexine thickness (µm)	Nexine thickness (µm)	S/N ratio	Width of lumen (µm)	Type of Ornamentation
<i>Aethionema armenum</i>	13.08-15.26	0.63-0.72	0.2-0.25	2.88-3.15	0.615-1.05	microreticulate
<i>Aethionema dumanii</i>	11.99-14.17	0.85-1	0.8-0.9	1.06-1.11	0.714-0.992	microreticulate
<i>Alyssum turkestanicum</i>	23.98-32.7	0.85-1.10	0.25-0.30	3.4-3.66	0.656-1.31	microreticulate and reticulate
<i>Memiocus limifolius</i>	16.35-23.98	0.81-0.87	0.44-0.54	1.5-1.97	0.680-0.837	microreticulate
<i>Odontarrhena muralis</i>	21.8-26.16	0.8-1	0.21-0.45	2.22-3.8	0.520-0.755	microreticulate
<i>Odontarrhena sibirica</i>	16.35-19.62	0.5-0.55	0.25-0.35	1.57-2	0.707-1.14	microreticulate and reticulate
<i>Alyssum simplex</i>	27.25-29.43	0.75-0.82	0.15-0.20	4.1-5	0.667-1.77	microreticulate and reticulate
<i>Fibigia chypeata</i>	27.25-32.7	0.85-1	0.25-0.35	2.85-3.4	0.767-1.11	microreticulate and reticulate
<i>Matthiola longipetala</i>	19.62-23.98	2.2-2.55	0.4-0.6	4.25-5.5	1.68-3.78	reticulate to macroreticulate
<i>Aubrieta libanotica</i>	16.35-27.25	1.9-2	0.5-0.6	3.33-3.8	0.683-2.19	microreticulate and reticulate
<i>Draba nana</i>	14.17-19.60	1.25-1.3	0.52-0.6	2.16-2.40	0.692-1.01	microreticulate
<i>Brassica nigra</i>	21.827.25	1.20-1.25	0.82-1	1.2-1.52	1.11-3.76	reticulate to macroreticulate
<i>Brassica elongata</i>	18.52-30.52	1.20-1.35	0.7-0.8	1.68-1.71	0.644-1.58	microreticulate and reticulate
<i>Crambe tataria</i>	19.52-25.07	1.75-2	0.45-0.5	3.88-4	0.750-1.92	microreticulate and reticulate
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	22.50-32.25	1.9-2.2	0.5-0.6	3.66-3.88	0.984-2.97	reticulate to macroreticulate
<i>Erica vesicaria</i>	10.9-13.08	0.85-0.9	0.22-0.25	3.6-3.86	0.698-1.38	microreticulate and reticulate
<i>Hirschfeldia incana</i>	19.62-27.25	1.6-1.8	0.5-0.7	2.57-3.2	0.802-2.09	reticulate to macroreticulate
<i>Sinapis arvensis</i>	21.8-31.50	2-2.1	0.45-0.50	4-4.66	2.16-4.96	macroreticulate
<i>Calepina irregularis</i>	17.44-21.8	2.15-2.35	0.75-0.85	2.76-2.86	0.693-1.58	microreticulate and reticulate
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	15.26-19.62	0.75-0.87	0.25-0.32	2.71-3	0.698-1.22	microreticulate and reticulate
<i>Camelina hispida</i>	17.44-22.89	0.8-0.85	0.45-0.52	1.63-1.77	0.687-1.41	microreticulate and reticulate
<i>Camelina rumelica</i>	18.53-27.25	0.8-1.1	0.5-0.75	1.46-1.6	0.641-1.03	microreticulate
<i>Neslia apiculata</i>	15.30-21.8	1-1.25	0.5-0.8	1.56-2	0.641-0.751	microreticulate
<i>Barbarea vulgaris</i>	15.20-21.8	0.75-0.8	0.15-0.18	4.44-5	0.680-0.966	microreticulate
<i>Chorispora tenella</i>	13.08-18.53	1-1.1	0.4-0.45	2.22-2.75	0.659-1.48	microreticulate and reticulate
<i>Microthlaspi perfoliatum</i>	19.62-26.16	1-1.2	0.52-0.6	1.92-2	0.641-1.67	microreticulate and reticulate
<i>Conringia orientalis</i>	17.44-22.89	1-1.1	0.8-0.9	1.22-1.25	0.686-1.25	microreticulate and reticulate
<i>Descurainia sophia</i>	9.5-13.20	0.75-0.8	0.2-0.25	3.2-3.75	0.615-0.717	microreticulate
<i>Erysimum cuspidatum</i>	17.44-23.98	1.1-1.3	0.6-0.8	1.62-1.83	0.612-0.845	microreticulate
<i>Erysimum repandum</i>	15.26-19.62	1-1.1	0.5-0.6	1.66-2.2	0.717-1.84	microreticulate and reticulate
<i>Erysimum smyrnaeum</i>	15.26-22.89	0.8-1.1	0.5-0.65	1.6-1.69	0.714-0.975	microreticulate
<i>Erysimum crassipes</i>	11.99-17.45	0.75-0.8	0.28-0.4	2-2.67	0.651-1.58	microreticulate and reticulate
<i>Strigosella africana</i>	14.17-21.8	1.25-1.60	0.5-0.55	2.5-2.9	0.743-2	microreticulate and reticulate
<i>Hesperis bicuspidata</i>	16.35-19.62	0.8-1	0.15-0.2	5-5.3	0.709-2.16	microreticulate and reticulate
<i>Isatis quadrilata</i>	16.35-23.98	1-1.2	0.3-0.45	2.66-3.33	0.703-1.59	microreticulate and reticulate
<i>Isatis glauca</i>	16.35-21.8	1.63-2.1	0.75-0.87	1.87-2.8	0.705-1.62	microreticulate and reticulate
<i>Lepidium draba</i>	23.98-28.34	1-1.1	0.8-0.9	1.22-1.25	0.685-1.05	microreticulate
<i>Lepidium perfoliatum</i>	16.35-23.98	0.8-1	0.15-0.2	5-5.33	0.712-0.989	microreticulate
<i>Sisymbrium altissimum</i>	19.62-21.8	1.52-1.6	0.4-0.45	3.37-4	0.717-2.35	microreticulate and reticulate
<i>Sisymbrium orientale</i>	13.08-21.8	1-1.1	0.25-0.3	3.66-4	0.687-1.58	microreticulate and reticulate
<i>Sisymbrium irio</i>	10.9-20.71	1-1.1	0.3-0.35	3.14-3.33	0.721-1.99	microreticulate and reticulate
<i>Sisymbrium loeselii</i>	11.99-14.17	0.75-0.8	0.2-0.25	3.2-3.75	0.644-1.51	microreticulate and reticulate
<i>Thlaspi arvense</i>	16.35-19.62	1-1.1	0.8-1	1.1-1.25	0.632-1.07	microreticulate

#### 4. Conclusions and discussion

Pollen shapes within a genus, or even within a tribe, did not show great differences in the studied taxa. The pollen grains examined were radial symmetrical and isopolar, and ranged from prolate-spheroidal to perprolate in shape. The most common pollen shapes determined within the tribes were subprolate and prolate. Prolate-spheroidal and perprolate pollen grains were found in a few taxa. These results were consistent with those of previous studies (prolate and subspheroidal [29]; prolate-spheroidal, subprolate, prolate [18]; subprolate, prolate, spheroidal [30] and prolate [8]). Although the pollen grains showed uniformity, with slight differences in shape, in Camelineae, Isatideae, Lepidieae, Brassiceae (subprolate and prolate), they did not in Aethionemeae, Alyseae, Arabideae, Erysimeae, and Sisymbrieae tribes. All the studied taxa had a tricolpate pollen aperture, except for *Matthiola longipetala*, which had indistinct colpi. Erdtman [9], Jonsell [31], Lahham and Al-Eisawi [29], and İnceoğlu and Karamustafa [32] reported that the colpi were absent or less prominent in a few *Matthiola* species.

The pollen grains in the taxa were generally small or medium sized. Pollen size sometimes has taxonomical importance at the tribe level and at other times at the genus or species level. Aethionemeae, Sisymbrieae, Cardamineae,

Chorisporeae, Conringieae, Descurainieae, Euclidieae, and Hesperideae had only small-sized pollen grains, while the others had both small- and medium-sized pollen. The longest pollen grains were seen in *Alyssum simplex*, *Fibigia clypeata*, and *Lepidium draba*, with a polar axis length of 35.97  $\mu\text{m}$ , while the shortest pollen grains were in *Descurainia sophia* with a polar axis length of 10.9  $\mu\text{m}$ .

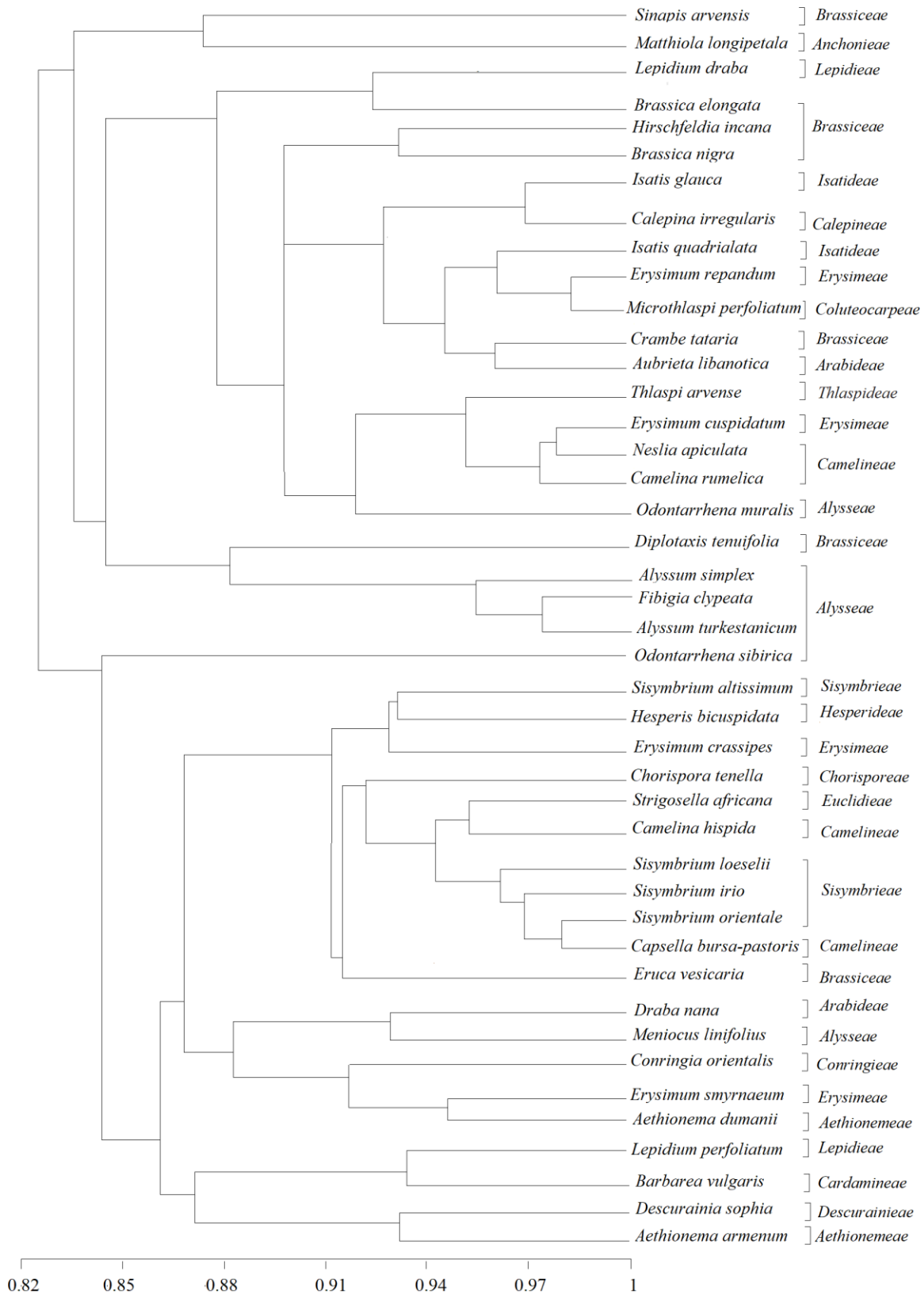


Figure 1. A dendrogram of 43 taxa examined in this study, based on Gower's General Similarity Coefficient using UPGMA clustering method with qualitative and quantitative pollen characters.

In the family Brassicaceae, the exine ornamentation was microreticulate, reticulate and macroreticulate. Khalik et al. [8] stated that ornamentation has an important role in the family, and it differs between genera within a tribe and species within the same genus. However, the exine ornamentation is inadequate to distinguish tribes and genera studied within the same tribe, while it is sometimes useful in distinguishing some species within the same genus. For example, *Brassica nigra* differs from *B. elongata*, by its reticulate and macroreticulate exine ornamentation (Table 2). The pollen grains of all the taxa studied within the same tribe had the same exine ornamentation in some cases, such as Aethionemeae and Lepidieae. Sometimes pollen grains of the same species have both microreticulate and reticulate ornamentation, while some species may have both reticulate and macroreticulate ornamentation on the same pollen grain. This, contrary to what Khalik et al. [8] stated, shows that exine ornamentation is not always uniformity in taxa and does not always suffice to distinguish between taxa at tribe and genus level in the family. While the exine ornamentation was microreticulate in Aethionemeae, Cardamineae, Descurainieae, Lepidieae, and Thlaspidieae, it appeared to be mixed in the other tribes. Macroreticulate ornamentation was observed in 5 species belonging to 2 tribes. These were *Matthiola longipetala* from Anthonieae and *Brassica nigra*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Hirschfeldia incana*, and *Sinapis arvensis* from Brassiceae. The largest lumens were found in *Sinapis arvensis*, at 2.16–4.96  $\mu\text{m}$ . As some of the tribes and genera were examined in this study with single genus or species, respectively, and the difference between these taxa could not be clearly determined.

In this study, it was observed that pollen characteristics can be useful, especially in the differentiation of species in many cases. However, there are some taxa with the same pollen characteristics in different genera and tribes.

In addition, in the UPGMA tree (Figure 1) constructed using the pollen characteristics, it was clearly seen that species belonging to the tribes of Brassiceae, Alyseae, Sisymbrieae, and Camelinae were partially together or located close to each other. For example, *Brassica elongata*, *Hirschfeldia incana*, and *Brassica nigra* belonged to Brassiceae; *Alyssum simplex*, *Fibigia clipeata*, *Alyssum turkestanicum*, and *Odontarrhena sibirica* belonged to Alyseae; *Sisymbrium looselii*, *Sisymbrium irio*, and *Sisymbrium orientale* belonged to Sisymbrieae, and *Neslia apiculata* and *Camelina rumelica* belonged to Camelinae. It was seen that *Sisymbrium altissimum* and *Odontarrhena muralis* differed from the other *Sisymbrium* species and *O. sibirica*, respectively, by the features of the colpus length and sexine thickness. It is also noteworthy that in the molecular analysis [33], some closely related tribes were also placed close to each other on the UPGMA dendrogram, such as the tribes of Camelinae and Erysimeae, and Chorisporae and Euclidieae

In some previous pollen studies, some of the Brassicaceae taxa that were included in this study were examined. Çıtak et al. [34] investigated the pollen morphology of 3 Turkish Brassicaceae taxa that were also examined in the present study. In both studies, the exine ornamentation of the pollen was reticulate. However, some slight differences were found in their pollen shapes. In the study of Çıtak et al. [34], the pollen shape was prolate-spheroidal in *Odontarrhena muralis*, oblate-spheroidal in *Diplotaxis tenuifolia*, and prolate-spheroidal in *Matthiola longipetala* subsp. *bicornis*, whereas it was subprolate and prolate in *Odontarrhena muralis* and *Diplotaxis tenuifolia*, and prolate-spheroidal and subprolate in *Matthiola longipetala* subsp. *bicornis*. Çetin et al. [35] determined that the surface ornamentation of the pollen grains of *Fibigia clypeata* was reticulate and the aperture type was tricolpate, as was observed in the present study. Khalik et al. [8] reported that the pollen shape of *Strigosella africana* was prolate and the exine ornamentation was reticulate. In this study, the pollen shape of this taxon was determined as subprolate and prolate and the ornamentation was reticulate with microreticulate.

This study showed that pollen morphological characteristics can be used to identify and distinguish some genera, species and partly tribes within the family. It also provided detailed information on the pollen grains of some Brassicaceae taxa, some of which were studied herein for the first time, and this knowledge will be useful for comparisons in future pollen studies.



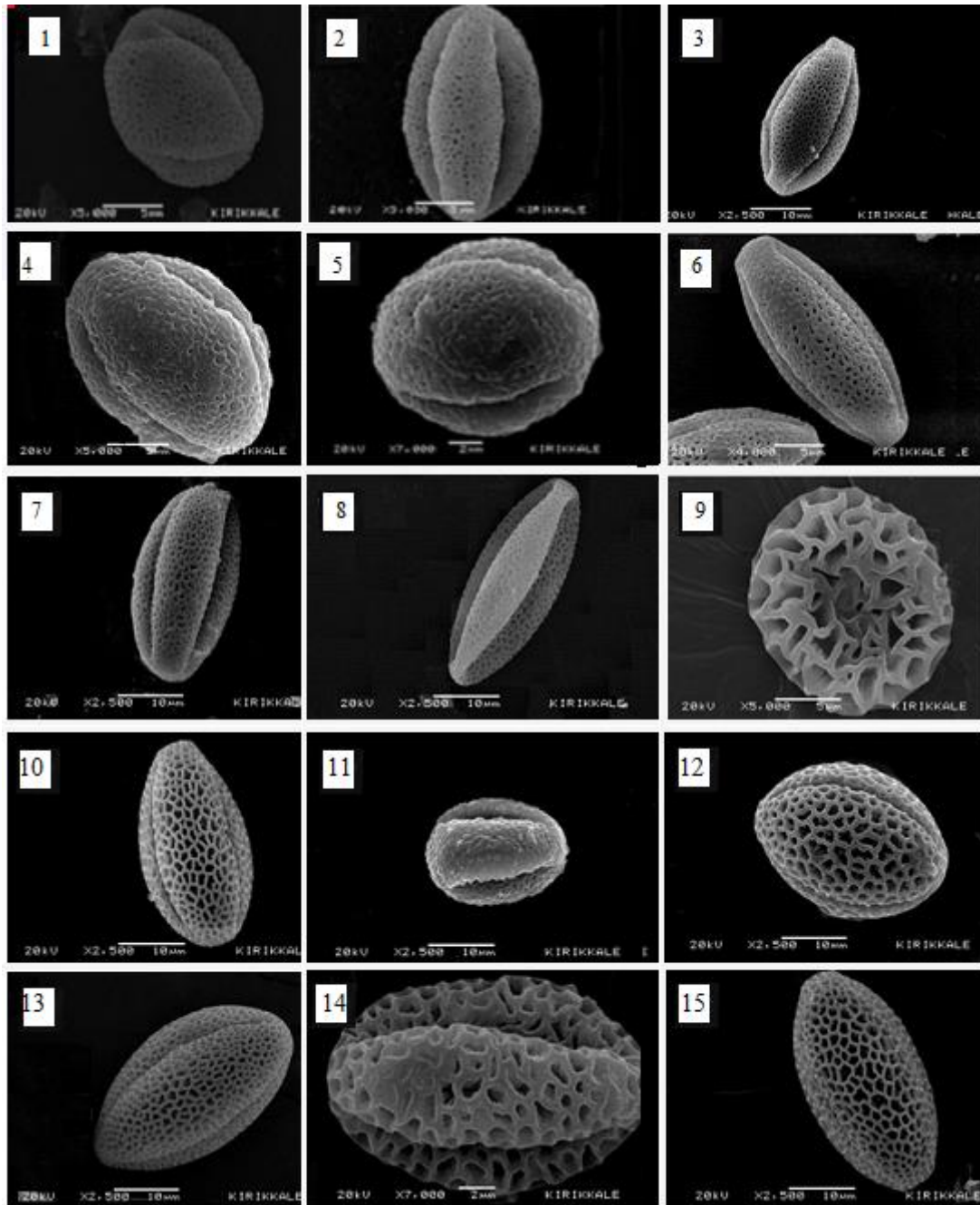


Figure 2. Scanning electron microscope photographs of the family Brassicaceae pollen grains: 1. *Aethionema armenum*; 2. *Aethionema dumanii*; 3. *Alyssum turkestanicum*; 4. *Meniocus linifolius*; 5. *Odontarrhena muralis*; 6. *Odontarrhena sibirica*; 7. *Alyssum simplex*; 8. *Fibigia clypeata*; 9. *Matthiola longipetala*; 10. *Aubrieta libanotica*; 11. *Draba nana*; 12. *Brassica nigra*; 13. *Brassica elongata*; 14. *Crambe tataria*; 15. *Diplotaxis tenuifolia*.



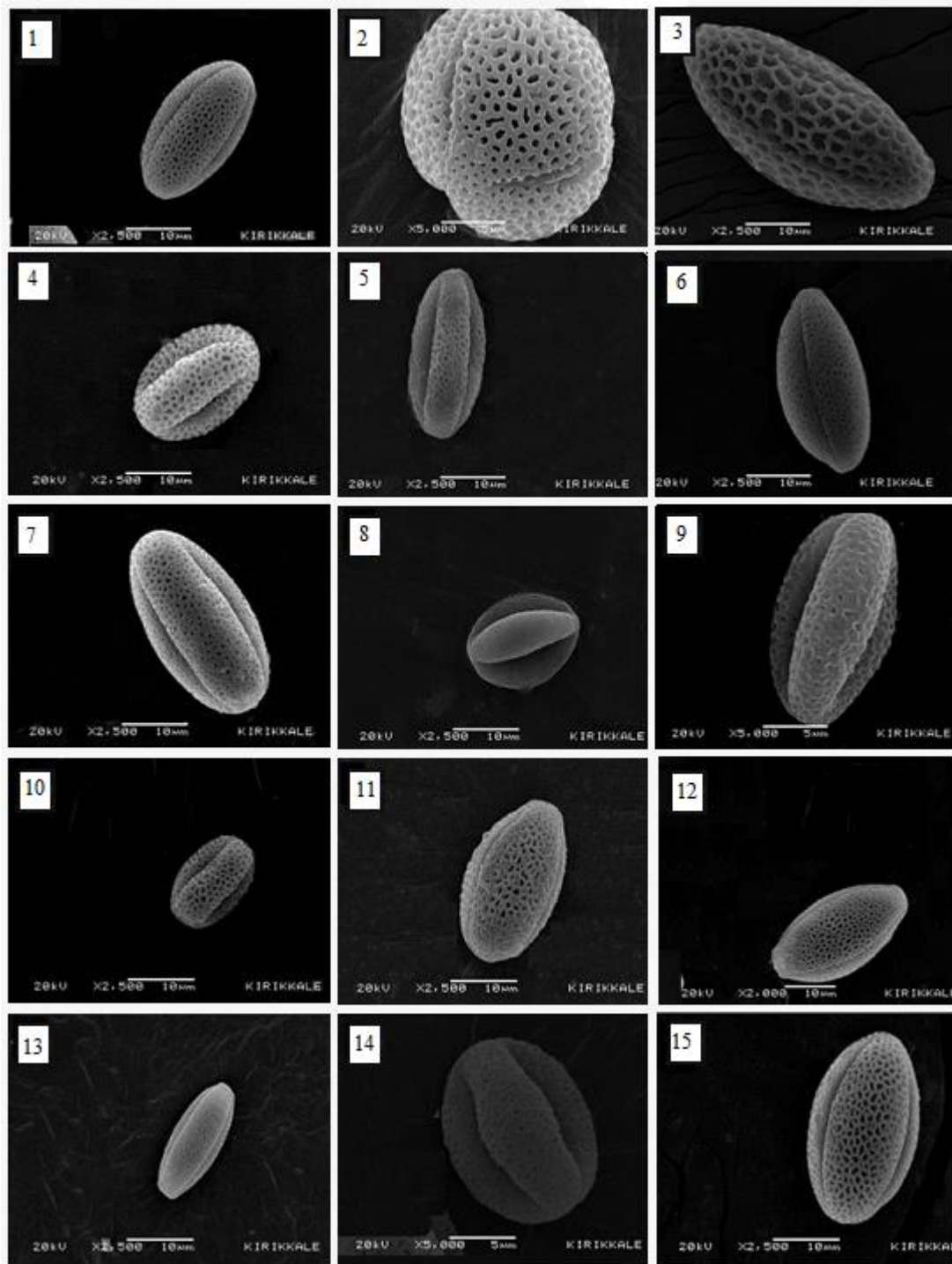


Figure 3. Scanning electron microscope photographs of the family Brassicaceae pollen grains: 1. *Eruca vesicaria*; 2. *Hirschfeldia incana*; 3. *Sinapis arvensis*; 4. *Calepina irregularis*; 5. *Capsella bursa-pastoris*; 6. *Camelina hispida*; 7. *Camelina rumelica*; 8. *Neslia apiculata*; 9. *Barbarea vulgaris*; 10. *Chorispora tenella*; 11. *Microthlaspi perfoliatum*, 12. *Conringia orientalis*; 13. *Descurainia sophia*; 14. *Erysimum cuspidatum*; 15. *Erysimum repandum*.

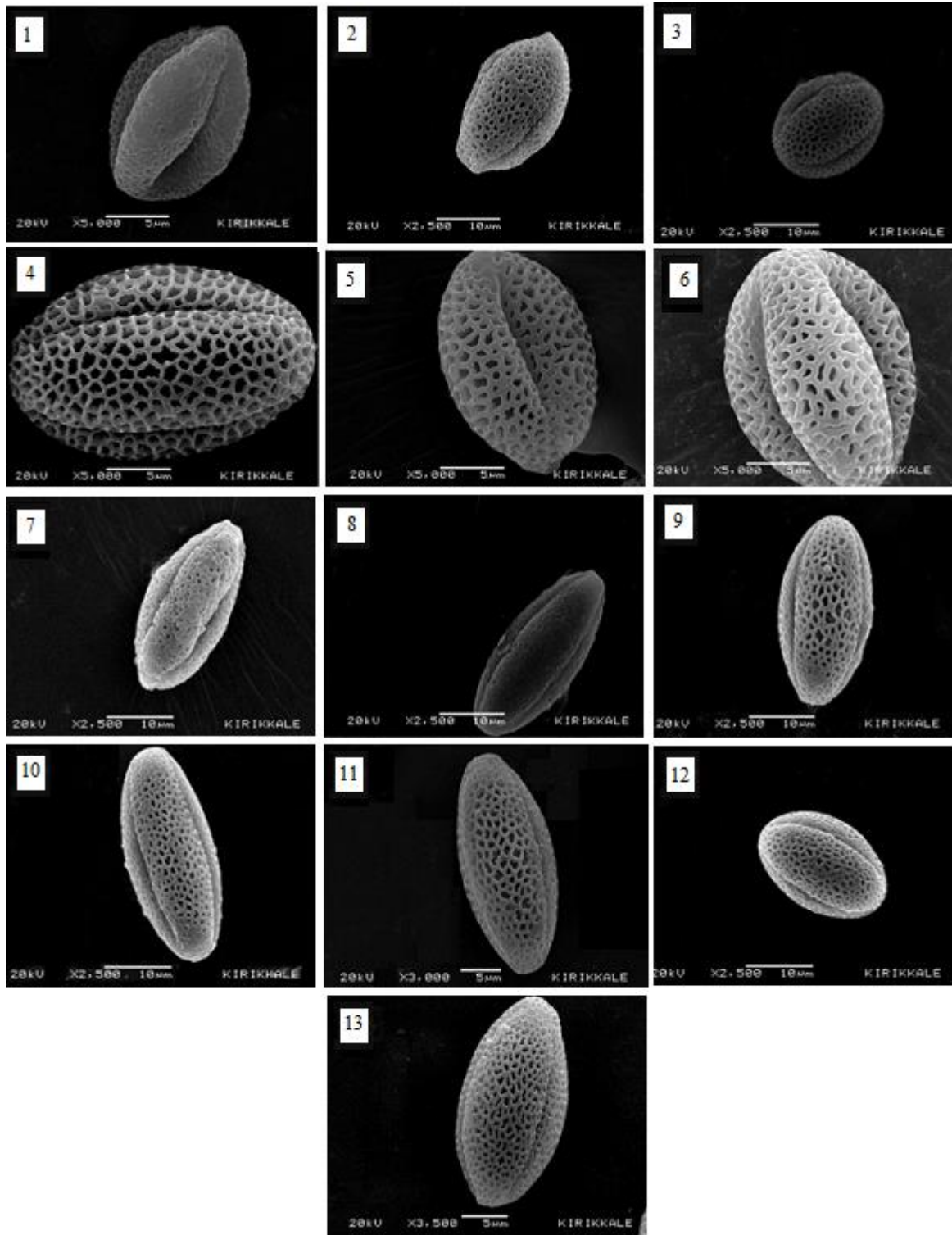


Figure 4. Scanning electron microscope photographs of the family Brassicaceae pollen grains: 1. *Erysimum smyrnaeum*; 2. *Erysimum crassipes*; 3. *Strigosella africana*; 4. *Hesperis bicuspidata*; 5. *Isatis quadrialata*; 6. *Isatis glauca*; 7. *Lepidium draba*; 8. *Lepidium perfoliatum*; 9. *Sisymbrium altissimum*; 10. *Sisymbrium orientale*; 11. *Sisymbrium irio*; 12. *Sisymbrium loeselii*; 13. *Thlaspi arvense*.



Figure 5. Light microscope photographs of the family Brassicaceae pollen grains: 1–2. *Aethionema armenum*; 3–4. *Aethionema dumanii*; 5–6. *Meniocus linifolius*; 7–8. *Alyssum turkestanicum*; 9–10. *Odontarrhena muralis*; 11–12. *Odontarrhena sibirica*; 13–14. *Alyssum simplex*; 15–16. *Fibigia clypeata*; 17–18. *Matthiola longipetala*; 19–20. *Aubrieta libanotica*; 21–22. *Draba nana*; 23–24. *Brassica nigra*; 25–26. *Brassica elongata*; 27–28. *Crambe tataria*; 29–30. *Diplotaxis tenuifolia*; 31–32. *Eruca vesicaria*; 33–34. *Hirschfeldia incana*; 35–36. *Sinapis arvensis*; 37–38. *Calepina irregularis*; 39–40. *Capsella bursa-pastoris*; 41–42. *Camelina hispida*. Scale bar: 10  $\mu$ m.



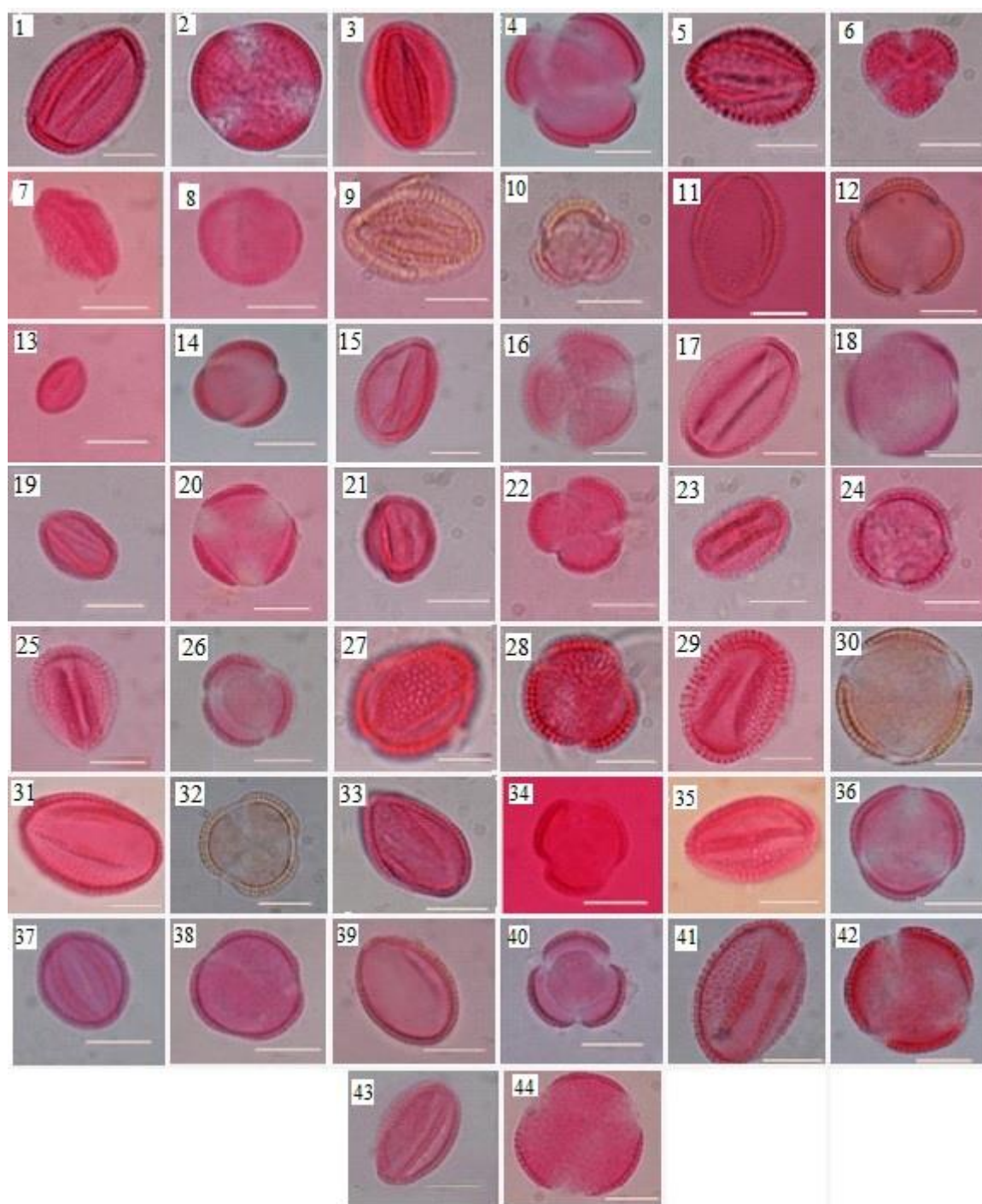


Figure 6. Light microscope photographs of the family Brassicaceae pollen grains: 1–2. *Camelina rumelica*; 3–4. *Neslia apiculata*; 5–6. *Barbarea vulgaris*; 7–8. *Chorispora tenella*; 9–10. *Microthlaspi perfoliatum*; 11–12. *Conringia orientalis*; 13–14. *Descurainia sophia*; 15–16. *Erysimum cuspidatum*; 17–18. *Erysimum repandum*; 19–20. *Erysimum smyrnaeum*; 21–22. *Erysimum crassipes*; 23–24. *Strigosella africana*; 25–26. *Hesperis bicuspidata*; 27–28. *Isatis quadrialata*; 29–30. *Isatis glauca*; 31–32. *Lepidium draba*; 33–34. *Lepidium perfoliatum*; 35–36. *Sisymbrium altissimum*; 37–38. *Sisymbrium orientale*; 39–40. *Sisymbrium irio*; 41–42. *Sisymbrium loeselii*; 43–44. *Thlaspi arvense*. Scale bar: 10  $\mu$ m.

## References

- [1] Yücel, E. & Ezer, T. (2018). The bryophyte flora of Eskisehir Province (Turkey). *Arctoa* 27, 164–171. [https://doi:10.15298/arctoa.27.16](https://doi.org/10.15298/arctoa.27.16)
- [1] Mummenhoff, K., & Zunk, K. (1991). Should *Thlaspi* (Brassicaceae) be split? Preliminary evidence from isoelectric focusing analysis of Rubisco. *Taxon*, 40, 427–434.
- [2] Mummenhoff, K., & Koch, M. (1994). Chloroplast DNA restriction site variation and phylogenetic relationships in the genus *Thlaspi* sensu lato Brassicaceae. *Systematic Botany*, 19, 73–88.

- [3] Zunk, K., Mummenhoff, K., Koch, M., & Hurka, H. (1996). Phylogenetic relationships of *Thlaspi* s.l. (subtribe Thlaspidinae, Lepidieae) and allied genera based on chloroplast DNA restriction-site variation. *Theoretical and Applied Genetics*, 92, 375–381.
- [4] Koch, M., & Al-Shehbaz, I.A. (2004). Taxonomic and phylogenetic evaluation of the American *Thlaspi* Species: identity and relationship to the Eurasian genus *Noccaea* (Brassicaceae). *Systematic Botany*, 29, 375–384.
- [5] Carlo, D., & Paula, R. (2004). New insights into pollen evolution. *International Journal of Plant Sciences*, 164, 835.
- [6] Davis, P.H., & Heywood V.H. (1973). *Principles of angiosperm taxonomy*. Huntington, New York: Robert E. Kieger Publishing Co.
- [7] Orcan, N., & Binzet, R. (2004). A study of *Alyssum floribundum* (Brassicaceae). *Phytologia Balcanica*, 10 (2-3), 217–225.
- [8] Khalik, K.A., Van Den Berg, R.G., Van Der Maesen, L.J.G., & El Hadidi, M.N. (2002). Pollen morphology of some tribes of Brassicaceae from Egypt and its systematic implications. *Feddes Repertorium*, 113, 211–223.
- [9] Erdtman, G. (1972). *Pollen morphology and plant taxonomy*. New York.
- [10] Sharma, R.R., & Nair, P.K.K. (1973). A study on pollen production in *Brassica* L. *Palynological Bull. V.J.*, 2, 62-66.
- [11] Carter, A.L., Williams, S.T., & McNeilly, T. (1975). Scanning electron microscope studies of pollen behaviour on immature mature Brussels sprout (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) stigmas. *Euphytica*, 24, 133-141.
- [12] Appel, O. and Al-Shehbaz, I.A. (2002). Cruciferae. In: *The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering Plant Dicotyledons, Malvales, Capparales and Non-Betalain Caryophyllaceae*. Kubitzki, K and C. Bayer (Eds.) vol.5, 75-174. New York: Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [13] Mutlu, B., & Erik, S. (2012). Pollen morphology and its taxonomic significance of the genus *Arabis* (Brassicaceae) in Turkey. *Plant Systematics and Evolution*, 298, 1931–1946.
- [14] Erdtman, G. (1952). *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms*. Stockholm: Almquist and Wiksell.
- [15] Khan, R. (2004). Studies on the pollen morphology of the Genus *Arabidopsis* (Brassicaceae) from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 36(2), 229–234.
- [16] Perveen, A., Qaiser, M., & Khan, R. (2004). Pollen flora of Pakistan-XLVII. Brassicaceae. *Pakistan Journal of Botany*, 36, 683–700.
- [17] Sagun, V., & Auer, C. (2016). Pollen morphology of selected species in the Camelinae (Brassicaceae). *Palynology*, 41(2), 255–266.
- [18] Ančev, M., & Deneva, B. (1997). Pollen morphology of seventeen species from family Brassicaceae (Cruciferae). *Phytologia Balcanica*, 3, 75-82.
- [19] Doğan, C., & İnceoğlu, O. (1990). Pollen morphology of some *Isatis* L. taxa in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 14, 12-31.
- [20] Brochmann, C. (1992). Pollen and seed anatomy of Nordic *Draba* (Brassicaceae) phylogenetic and ecological implications. *Nordic Journal of Botany*, 12(6), 657-673.
- [21] Pınar, N.M., Duran, A., Çeter, T., & Tuğ, G.N. (2009). Pollen and seed morphology of the genus *Hesperis* L. (Brassicaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 33, 83-96.
- [22] Kızılpınar, İ., Altınözlü, H., & Doğan, C. (2012). Pollen morphology of the some species of the genus *Malcolmia* (Brassicaceae). *Mellifera*, 12(23), 24-29.
- [23] Karaismailoğlu, M.C. (2017). Palynological features of eleven *Aethionema* taxa from Turkey and their systematic implications. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 24(2), 197-204.
- [24] Erdtman, G. (1954). *An introduction to pollen analysis*. Stockholm: Almqvist and Wiksell.
- [25] Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift*. 54, 561–564.
- [26] Menemen, Y., & Jury, S. L. (2001). A taxonomic revision of the genus *Pastinaca* L., (Umbelliferae). *Israel Journal of Plant Sciences*, 49: 67-77.
- [27] Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143, 1-81.
- [28] Erdtman, G. (1943). *An introduction to pollen analysis*. Waltham, Mass: Chronica Botanica Company.
- [29] Lahham, J. N., & Al-Eisawi, D. (1987). Pollen morphology of Jordanian Cruciferae. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München*. 23, 355–375.
- [30] Atçeken, M.M., Dural, H., & Çitak, B.Y. (2016). The morphological, anatomical and palynological investigations on some taxa of genus *Aethionema* A.T. Waiton (Brassicaceae). *Biodicon*, 9(1), 55-68.
- [31] Jonsell, B. (1979). New taxa of Cruciferae from East tropical Africa and Madagascar. *Botanica Notiser*, 132, 521–544.
- [32] İnceoğlu, Ö., & Karamustafa, F. (1975). The pollen morphology of plants in Ankara region II. Cruciferae. *Commomunication Faculty of Sciences University of Ankara Series, C2*, 21, 111–118.
- [33] Kiefer, M., Schmickl, R., German, D.A., Mandáková, T., Lysak, M.A., Al-Shehbaz,.... Koch, M.A. (2014). BrassiBase: Introduction to a novel knowledge database on Brassicaceae evolution. *Plant Cell Physiology*, 55(1), 1–9.
- [34] Çitak, B.Y., Dural, H., & Gönen, B. (2016). Selçuk Üniversitesi Alâeddin Keykubat Kampüsü'nde Yayılış Gösteren Bazı Bitkilerin Polen Morfolojileri. *Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42 (1), 42-56.
- [35] Çetin, Ö., Duran, A., Martin, E., & Tuştaş, S. (2012). A taxonomic study of the genus *Fibigia* Medik. (Brassicaceae). *African Journal of Biotechnology*, 11(1), 109-119.



## The genus *Moenchia* (Caryophyllaceae) in Turkey

Mustafa KESKİN\*<sup>1</sup>

ORCID: 0000-0003-2454-1891

<sup>1</sup> Marmara University, Institute of Pure and Applied Sciences, Biology Program, 34722, Goztepe, Istanbul, Turkey

### Abstract

A new identification key, full descriptions, and distribution records based on various herbaria of Turkish *Moenchia* are given in this study. Detailed and comparative descriptions of the studied species have been prepared. Also, a new species, *Moenchia akmanii* M.Keskin sp. nov., is described as for science. The new species is morphologically similar to *M. graeca* that is but differs by long stems, different leaves, non-flowering shoots, 3-nerved sepals, mauve anthers, etc. The new identification key has been created to distinguish taxa distributed in Turkey.

**Keywords:** *Moenchia*, *Moenchia akmanii*, new species, Turkey

----- \* -----

### Türkiye'deki *Moenchia* (Caryophyllaceae) cinsi

### Özet

Bu çalışmada, Türkiye'de yetişen *Moenchia* cinsine ait yeni teşhis anahtarları, betimlemeler ve dağılımlar çeşitli herbarium numunelerine dayanılarak verilmiştir. İncelenen türlere ait detaylı ve karşılaştırmalı betimlemeler hazırlanmıştır. Ayrıca *Moenchia akmanii* M.Keskin sp. nov. adıyla bilim dünyasına yeni bir tür tanıtılmıştır. Bu yeni tür, morfolojik olarak *M. graeca* türüne benzemekle beraber ondan uzun gövdesi, farklı yaprakları, çiçeksiz sürgünleri, 3-damarlı sepalleri, mor anterleri vb. karakterleri ile ayrılmaktadır. Türkiye'de yayılış gösteren taksonları ayırt etmek için yeni teşhis anahtarları oluşturulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *Moenchia*, *Moenchia akmanii*, yeni tür, Türkiye

### 1. Introduction

*Moenchia* is a small genus with only 3 to 5 species living mainly in the Mediterranean area [1]. It is certainly related to the genus *Cerastium*. In particular, it is separated from the genus *Cerastium* with non-disintegrating petals.

Four species of *Moenchia* have been reported in A Checklist of the Flora of Turkey [2]. After examining much-related literature [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8] about this genus in detail, an unnamed specimen is decided to be a new species and proposed here as *Moenchia akmanii* M.Keskin.

### 2. Materials and methods

During the revision of the genus *Cerastium* for Illustrated Turkish Flora, the genus *Moenchia*, which is closely related to this genus, was also studied. During this working time, all the specimens of *Moenchia* genus present in various herbaria (E, AEF, HUB, ISTE, ISTF, ISTO, MARE, MUFE, ANK, NGBB, VANF, IZEF - These herbarium samples were examined by using only the high-resolution pictures obtained on the website.-) was examined morphologically. The findings obtained during the examinations were comparatively studied. As a result, detailed

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905067638790; Fax.: +902167773201; E-mail: trifolium@hotmail.com



descriptions and distributions were prepared for all species and mapped. Furthermore, an unidentified specimen is described as a new species to science from Central Anatolia (Ankara province, Turkey).

### 3. Results

#### 3.1. Description of the genus *Moenchia*

*Moenchia* Ehrhart, Beitr. Naturk. 2: 177 (1778). (nom. cons.), non Medik., non Roth.

Type species: *Moenchia erecta* (= *Moenchia quarternella* Ehrh. (as *Mönchia quarternella*)).

Syn.: *Alsinella* Moench., Meth. 222 (1794) (non Hill 1756). *Doerriena* Borkh., Rhein. Mag. 1: 528 (1793).

Annual herbs. Stems glabrous, thin, ascending to erect, simple or sometimes branched. Cauline leaves connate, sessile or sometimes little petiolate in basal leaves; blade 1-veined, linear to linear-oblongate, apex acute or subacute. Inflorescence terminal, 1-10 flowered, spreading cymes or flowers solitary; bracts paired, subfoliaceous with scarious margins. Pedicels erect or subpatent in fruit. Sepals 4 or 5, free, green, usually linear-lanceolate, herbaceous, scarious, apex acute; petals 4 or 5, white or blue-mauve, blade apex generally entire or rarely small-dentate; stamens 4, 8 or 10; styles 4 or 5; filaments longer than anthers; anthers generally ovate to spherical; stigmas 4 or 5; ovary ovate to subcylindrical and longer than or equal to style. Capsules cylindrical, opening by 8 or 10 revolute teeth, shorter than or equaling sepals. Seeds small, more, brown, tuberculate to submuricate.

#### 3.2. The New Identification key for *Moenchia* in Turkey

1. Sepal and petal 4
  2. Stamen 4 ..... 5b. *M. erecta* var. *octandra*
  2. Stamen 8 ..... 5a. *M. erecta* var. *erecta*
1. Sepal and petal 5
  3. Petal blue-mauve..... 2. *M. coerulea*
  3. Petal white
    4. Petal longer than sepal ..... 1. *M. mantica*
    4. Petal at most equal to sepal
      5. Stems 2-15 cm; sepal 1-nerved; anthers yellow..... 4. *M. graeca*
      5. Stems 15-25 cm; sepal 3-nerved; anthers mauve..... 3. *M. akmanii*

#### 3.3. The Checklist of *Moenchia* in Turkey with a New Species

##### 3.3.1. *Moenchia mantica* (L.) Bartl. Cat. Hort. Gött. 5 (1839). [Fig.1, 2]

Type: Described from Verona, Italy (Hb. Linn. 603/28, photo!).

Syn.: *Cerastium manticum* L., Sp. Pl. Ed.2, 629 (1762). *M. dolichothea* Somm. & Lev. in Act. Hort. Petrop. 13: 40 (1893).

Annual herbs. Stems ascending to erect, mostly dichotomous branched, 10-40 cm. Leaves 15-20 x 3-5 mm, glabrous, lanceolate to very narrowly elliptic-lanceolate, acute rarely obtuse. Inflorescence strict, usually many-flowered. Bracts ovate to lanceolate with broad scarious margins. Pedicels unequal, longest pedicel 45-70 mm. Sepals 5-parted, 6-9 mm, broad and lanceolate, elevated 1-veined, and c.10 thin vein. Petals white, 5-parted, slightly 2 x longer than the sepals. Stamens 10, anthers yellow. Capsule ovoid, at most equal to sepal. Seeds 0.8-1.1 mm.

#### Examined specimens

**Ağrı:** Patnos, Top dağı, Kızkapan köyü üstleri, step, 390 17' 350"N ve 420 38' 200"E, 1850m, 17 v 2006, H.Emlik 1616 (VANF 3642!).

**Afyonkarahisar:** Bayat, Otlugedik sırtı kuzeyi, 1360m, 22 v 1975, M.Vural (GAZI 197!). Bolvadin, Emirdağ, Gedik yaylası, 1600m, 8 vi 1987, Y.Akman (ANK 14354!). Kocatepe, kıraç sırtlar, 22 v 1966, A.BAYtop, B.Çubukçu (ISTE 9392!).

**Ankara:** Beypazarı, Alemdar köyü üstü, 1400m, 1 vii 1971 (ANK 788!). Beypazarı, Cuma deresi, köprübaşı, 2 vii 1972, Y.Akman (ANK 8516!). Beypazarı, Deliyar-Cuma deresi, *Pinus nigra* ormanı, 1400m, 22 vii 1972, Y.Akman (ANK 8519!). Beypazarı, Elmabeli, *Pinus nigra* orman açıklığı, 700m, 27 v 1971 Y.Akman (ANK 788-A!). Beypazarı, Karaşaraltı, 1000m, 28 v 1971, Y.Akman (ANK 788-B!). Beypazarı, köprü yanı, 28 v 1972, Y.Akman (ANK 8520!). Beypazarı, Nallıkaş, nemli çayırlar, 1500m, 26 vi 1973, Y.Akman (ANK 8517!). Elmadağ, 1600m, 25 vi 1932, W.Kotte (ANK 122!). Kızılcahamam, Karaçam ormanı, 26 vi 1960, A.Huber-Morath (ANK!). Kızılcahamam, Soğuksu Milli parkı, yanık sırtı, 1300-1350m, 12 v 1990, Ö.F. (GAZI 1328!).

- Aydın:** Çine çayı vadisi, 21 iv 1969, K.Fitz (EGE 3973!). Çine çayı kenarı, 21 iv 1969, H.Güner (EGE 15184!). Dalaman-Cumalı 6.6km, çalılık yamaçta, 24 iv 1992, A.Byfield B 49 (ISTE 64875!).
- Balıkesir:** Ayvalık güneyi, Yassı tepe, 150m, 28 v 1997, K.Alpınar (ISTE 73953!). Ayvalık, Hakkıbey yarımadası, Cennet koyuna bakan yamaçlar, 15 iv 1998, K.Alpınar (ISTE 74992!). Edremit, Bursalıhanı, *Pinus brutia* ormanı, 10 v 1966, H.Peşmen (EGE 15192!). Edremit, Kumluca, Eybek kule yolu, bir çoğu bir arada, bol miktarda, güney, 940m, 23 iv 1999, M.Tokcan (ISTO 28525!). Erdek, Marmara adası, maki ve çayır, 2 v 1965, E.Demiriz (ISTF 5203!). Kozak, Kıranlı köyü, Madran çayı, 15 v 1966, H.Peşmen 565 (EGE 5885!). Marmara adası, Marmara yakınları, kireç ocakları üstündeki tepeler, 8 v 1971, A.Baytop, G.Ertem, F.Öktem (ISTE 19636!). Marmara adası, Nahiye merkezi, Çınarlıköy arasındaki yamaçlar, 100m, 6 v 1978, E.Tuzlacı (ISTE 39174!). Marmara adası, *Pteridium* altında, 550m, 17 vi 1968, A.Baytop, T.Avcıgil (E ! ve ISTE 13740!).
- Bilecik:** Bozöyük-İnegöl, c.37 km from İnegöl and c.1km from river Aksu to Bözöyük, N of the main road. Fairy steep slope, facing S, with open deciduous forest affected by grazing. 830m, 21 v 1990, Raino Lampinen 7660 (EGE 33879!).
- Bitlis:** Tatlıkaynak köyü, step, 1550m, 18 v 2002, A.Altıok 2286 (VANF 3709!). Bitlis'in 5km kuzeyi, sulu çayırlar, 1350m, 18 v 1966, Davis 43139 (E !). Tatvan ile Küçükusu arası, 1750m, 19 v 1966, Davis 43293 (E !).
- Bolu:** Abant girişi, 840m, 25 v 1980, Y.Akman, E.Yurdakulol (ANK 10557). Abant, 1350m, 26 vi 1975, A.Baytop (ISTE 32276). Abant, 5 vii 1975, A.ve T.Baytop (ISTE 32405a!). Abant, Alpagut'u geçince *Carpinus betulus* ormanı, 1000m, 10 vi 1978, Y.Akman (ANK 9449!). Bandırma, Şahinburgaz, maki zonu, 300m, 19 v 1976, Y.Akman (ANK!). Bolu'ya inişte, Kuzey yamaçları, meşe ormanı, 800m, 10 vi 1980, Y.Akman, E.Yurdakulol (ANK 10558!). Gerede, Aktaş ormanları, Aşağı ovacık, *Pinus sylvestris* katı, 1400m, 3 vii 1975, O.Ketenoglu (ANK 428!). Gerede-Aktaş ormanları, sarıçam katı, 1400m, 3 vii 1975, O.Ketenoglu (ANK 428!). Bolu işletmesi, 14/00, Kökez bölgesi, Sultan serisi, bölme no: 38, bakı N, 930m, 16 vii 1978, H.Aksoy 371, (ISTO 25661!). Bolu işletmesi, 14/00, Kökez bölgesi, Sultan serisi, bölme no: 44, bakı SSE, 970m, 9 vi 1978, H.Aksoy 58, (ISTO 25573!). Köroğlu, Karaçamaltı, anakaya volkanik, 1400m, 26 vi 1975, Y.Akman (6310!). Sarı Mestan, 27 vi 1997 Y.Akman (ANK!). Dolubaba-Yığıtali, 14 v 1955, B.Tutel ve M.Heilbron (ISTF 14129!).
- Bursa:** Işıklar köyü, 5 v 1950, T.Baytop, A.Berk (ISTE 297!). Uludağ, Soğukpınar, 500-1000m, 15 v 1962, Dudley 34751 (E!). Uludağ, 27 iv 1883, P.Sintenis (E !). Uludağ, 17 v 1899, J.Bornmüller 4210 (E !). Uludağ, orman zonu, 1450m, ix 1964, F.F.E.De Wilde (E !). Uludağ, Softaboğan'nın batısı, Abietum, 1700m, 10 viii 1951, H.Demiriz (E !).
- Çanakkale:** Gökçeada, Bademli köyü üstü, Yıldız tepesi kuzeyi, 0m, 16 iv 1977, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 20346!). Gökçeada, Değirmendere Ketveren tepesi, kuzey doğusu, 30m, 19 v 1975, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 23039!). Gökçeada, Pınarbaşı-Kaleköy arası, vadi içinden, 100m, 18 iv 1977, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 20345!). Gökçeada, Yıldız köyü Kuzulimanı arası, 15m, 14 iv 1975, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 23038!). Gökçeada, Yıldız köyü Kuzulimanı arası, 20m, 14 iv 1975, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 23040!). Kurudağ, 28 iv 1968, A. ve T. Baytop (ISTE 12560!). Yenice, Kalkım Ayı gediği yolu, Karaçam altında bol miktarda, 840m, 16 v 1999, M.Tokcan (ISTO 28526!).
- Çankırı:** Atkaracalar, Dumanlıdağı, Avlağa-Sivren yaylası arası, step, 1500-1600m, 9 vii 1992, Ahmet Duran (GAZI 1572!). Işık dağı, Karaçam altı, 1400m, 12 vi 1975, Y.Akman (ANK 6317!). Saka dağı, yayla, 1050m, 27 vi 1980, M.Demirörs (ANK 172!).
- Denizli:** Babadağ, Babadağ ilçeden Başalan yaylasına çıkarken 2km, yamaçlar, 1300m, 9 v 1986, S.Oluk, Ö.Seçmen, Y.Gemici (EGE 34863!). Babadağ, Gökbel yaylası, Acılık tepesi, eğimli arazi, 1750m, 17 v 1986, S.Oluk (EGE 34869!). Buldan, 29 vi 1965, C.Regel (EGE 15183!). Çivril, Sığırkuyruğu yaylası, 1300-1400m, 4 v 1983, Y.Gemici (EGE 25459!). Honaz dağı, Başalan mevkii, yol kenarı, 700m, 17 v 1973, E.Tuzlacı (ISTE 24762!). Honaz dağı, Döngelli tepeden Honaz'a inen oduncu yolu, 950m, 18 v 1973, E.Tuzlacı (ISTE 24851!). Honazdağı, Baymanlı mevkii, 700m, 18 v 1973 (ISTE 24867!).
- Edirne:** Babaeski-Havsa arası, Havsa yakınları, Simit reverzuarına iniş yolu, 8 v 1973, A.Baytop, E.Tuzlacı (ISTE 24402!). Keşan-Enez yolu, Kılıçköy'den 1,5km önce, merada otluk çukurlar ve tepecikler üzerinde, 18 iv 1992, A.Byfield B 26 (ISTE 64852!). Keşan-İpsala yolu, İpsala yakınları, yol kenarı, 22 iv 1970, A.Baytop, F.Öktem (ISTE 17658!).
- Eskişehir:** Sündiken dağı, Kalabak deresi, 1400-1600m, 12 vi 1971, T.Ekim (E ! ve ANK 335!). Türkmen dağı, Kazan çukuru, 1400m, 16 vi 1976, T.Ekim (ANK 2128!).
- Giresun:** Merkez, Ülper köyü, yumuşak toprak üzerinden, 1200m, 23 v 1983, Ö.Yeşilada (HUB 2837!).
- İğdir:** Tuzluca, Hadımlı-Sarıabdal arası tepeler, 1279m, 30 v 2007, E.Altındağ (ISTE 84538!).
- İstanbul:** Alemdağ, 18 iv 1952, T.Baytop, A.Berk (ISTE 3005!). Anadolu hisarı, 19 v 1942, M.Başarman (ANK!). Ataşehir: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi, doğal alan bitkileri koleksiyonu, tarihsiz, M.Vural (NGBB 006115!). Aydos yolu, Aydos dağı, Hayrettin çeşmesi, maki, 12 v 1958, B.Tutel (ISTF 16982!). Aydos, 1 iv 1951, A.Berk (ISTE 3690!). Aydos, 10 v 1950, T.Baytop, A.Berk (ISTE 3716!). Aydos, 22 iv 1951, A.Baytop (ISTE 3710!). Aydos, 3 iv 1952, T.Baytop, A.Berk (ISTE 3682!). Aydos, 3 iv 1952, T.Baytop, A.Berk (ISTE 3705!). Aydos, Yakacık, 24 iv 1966, N.Tanker (ISTE 8687!). Beykoz, Dereseği, Karakulak suyu çevresi, ormanaltı, 11 v 1967, H.Demiriz, B.Tutel, A.Aydın (ISTF 22079!). Büyükdere, 30 iv 1956, E.Leblebici (EGE 15193!). Çatalca, Arnautköy girişi, set üstü, 03 v 1989, E.Üzen (ISTF 35820!). Çatalca, Hadımköy, Çanakça, Çanakça-Kestanelik, yol kenarı, 70m, 12 iv 2002, İ.Genç (ISTE 82065!). Çatalca, Hadımköy, Tugay, sevgi korusu, 60m, 28 iv 2002, İ.Genç (ISTE 82094!). Çatalca, mezarlık yakınları,

1 v 1964, A. ve T.Baytop (ISTE 7605!). Çatalca, Subaşı köyü çevresi, buğday tarlası kenarı, 24 v 1972, N.Özhatay, E.Tuzlacı (ISTE 21880!). Çatalca, Subaşı yolu, 21 v 1974, A.Baytop, E.Tuzlacı (ISTE 28164!). Çatalca, Subaşı, Piknik alanı, yol kenarı, 80m, 19 v 2002, İ.Genç (ISTE 82137!). Çekmeköy, Çataltepe Kalebayırı yolu sulak nemli sazlıklar, 254m, 23 iv 2016, M.Keskin, E.Özhatay, N.Özhatay !. Ispartakule, Kapadık çiftliği, 14 v 1949, M.Başarman (ISTF 8552!). Kanarya, Soğuksu, 31 v 1964, A. ve T.Baytop (ISTE 7672!). Karaburun-Terkos arası, 2km, 13 v 1962, Betül Tutel (ISTF 18480!). Kayışdağ, 16 iv 1952, T.Baytop, A.Berk (ISTE 3704!). Kemerburgaz, Ağaçlı, 0,5km, S., çayır, 4 v 1968, H.Demiriz (ISTF 23065!). Kilyos, sol taraftaki sahil tepeleri, 22 v 1992, Ş.Şiraneci, E.Akalın (ISTE 63924!). Küçükbakkalköy-Kayışdağı yolu üzerinde, 12 v 1963, Betül Tutel (ISTF 18847!). Küçüksu, 22 iv 1966, A.Ali, E.Günhan, S.Türkseven (ISTE 8635!). Maltepe, Başbüyük Mahallesi, 7 ii 2001, M.Keskin 2462 (ISTE 79290!). Maltepe, Cevizli, Dragos tepesi, N yamaçlar, çayır, 28 iv 1968, A.Çırpıcı, O.Sunter (ISTF 23035!). Maltepe, Cevizli, İzmit yolu, çayır, 11 iv 1971, A.Çırpıcı (ISTF 25140!). Olimpiyat köyü alanı, vadinin olimpiyat sahası tarafı, harfiyat yapılan alanlarının altları, taşlık alanlar, 6 v 2001, E.Akalın, U.Uruşak (ISTE 79932!). Maltepe: Cevizli-Dragos tepenin NE yamaçları, 14 v 1971, E.Özhatay 282 (ISTO 18653!). Pendik, Akfırat-Göçbeyli, Aydımlık sokak girişi, giriş yolunun solundaki Taşlı makilikler, 105m, 13 v 2017, M.Keskin 2161, N.Özhatay, E.Özhatay !. Sancaktepe, Turkuaz su fabrikası yakınları, Fabrikalar alanı, çayır, 15 iv 2017, M.Keskin 6813!. Sarıyer, Haciosman bayırı, yamalı çayır, 15 v 1973, Tutel, Çırpıcı, Kuş (ISTF 27116!). Sarıyer: Belgrad ormanı, Balaban dere, 28 iv 1959, F.Yaltırık (E ! ve ISTO 1317!). Sarıyer, Belgrad ormanı, 1951, İ.Akbaş (ISTO 148!). Silahtarğa ilerisindeki tepeler, 13 v 1967, N. ve M.Tanker (ISTE 11205!). Silivri, Danamandıra, Tabiat Parkı yolu-Sinekli yolu ayrımı, gençleştirilmiş meşe ormanı, M.Keskin 6220, N.Özhatay, M.Özhatay !. Silivri, Gelevri, Gülçin çiftliği, bodur orman, *Quercus*, *Phillyrea*, *Carpinus*, kurak çayır, 16 iv 1961, H.Demiriz (ISTF 17892!). Silivri, Lüleburgaz deniz evleri civarı, G.Ertem, 30 iv 1973 (ISTE 24252!). Terkos fidanlığı yakını, 3 v 1971, A.Baytop, G.Ertem, N.Özhatay, (ISTE 19478!). Terkos yolu, Çınarlıhan civarı, uzunca ova, makide, 150m, 12 v 1951, H.Demiriz (E ! ve ISTF 11078!). Terkos yolu, Habibler köyünde 2km önce, maki, 13 v 1962, B.Tutel (ISTF 18460!). Terkos, Fidanlık yolu kenarı, 3 v 1971, Ertem, E.Özhatay 264 (ISTO 18638!). Rumeli hisarı, 20 v 1918, B.V.D.Post (E !).

**İzmir:** Bergama, Kozak, Kıranlı odun deposu, 750m, 24 iv 1986, Ö.Seçmen (EGE 17938!). Kemalpaşa-Sincancılar, Ovacık, 300m, 12 v 1969, G.Oğuz (EGE 15187!). Ödemiş, Bozdağ, 29 v 1962, C.Regel (EGE 15185!). Ödemiş, Keldağı, kayalık yerler, 1350m, 31 v 1980, E.Tuzlacı, T.Çelebioğlu (ISTE 44382!). Yamanlar dağı, 24 v 1995, K.Alpınar, G.t Hart (ISTE 67943!).

**Kastamonu:** Ilgaz dağları, Kanlı göl, Çeşme üstü, 1300m, 13 vi 1982, Y.Akman, E.Yurdakulol, M.Demirörs (ANK 12118!). Ballıdağ, Sarıçam ormanı, 1350m, 11 vi 1979, O.Ketenoglu 881 (ISTO 25187!). Daday arası, Sarıoluk, meşelik, 1000, 19 vi 1978, O.Ketenoglu (ANK 880!). Daday arası, taş ocakları, 950m, 23 vi 1980, O.Ketenoglu (ANK 883!). Daday, Kiraz serisi, Abies ormanı, 1100m, 19 vi 1978, O.Ketenoglu (ISTO 29468!). Devrekani, Oyrak II geçidi, *Pinus sylvestris* topluluğu, anakaya ofiolitik, 1210m, 08 vi 1991, E.Yurdakulol (ANK 3517!). Tosya, Ahlatdağı bölgesi, Büyükdere serisi, Dikmen tepe mevki, *Pinus nigra* ormanı 1500m, 11 vi 1975, M.Kılınç (ANK 1085!). Tosya, Ortalıca yaylası, -Acıkavak yaylası arası, Karaçam ormanı, 1350m, 30 vi 1976, M.Kılınç (ANK 5069!).

**Kırklareli:** Demirköy, Demirköy dökümhanesi, 176m, 30 v 2009, N. ve E. Özhatay (ISTE 27690!). Demirköy, Sarpdere yolu, 511m, 14 vi 2009, E.Akalın & S.Demirci (ISTE 92080!). Dereköy-Hudut arası 4km, yol kenarı, otlu alanlar, 525m, 23 v 2009, N.Güler, H.Ersoy (ISTE 96220!). Pınarhisar'dan 9 km, çalılıklar arası, 21 v 1974, A.Baytop, E.Tuzlacı (ISTE 28226!). Üsküp yolu, ana kavşaktan c.4km, sırtlarda, 21 v 1974, A.Baytop, E.Tuzlacı (ISTE 28241!). Eski Saray yolu, tarlalardan aşağıya inerken, 40m, 21 iv 2005, D.Oral 1521 (ISTO 33579!).

**Kocaeli:** Gebze-İzmit yolu, 2. km, yol kenarı, 14 v 1970, E.Özhatay 128 (ISTO 18498!).

**Kütahya:** Azant'tan Pehlivan taşına, Eğrigöz 3km geçince, 1360m, 8 vi 1978, G.Görk (EGE 37882!). Domaniç-İnegöl arası, Duraköy ilerisi, 940m, 11 v 1982, K.Alpınar (ISTE 48659!). Emet, Eynal'dan Emet'e doğru 9km sonra, açık habitat, kumlu fiğ habitatı, 1200m, 17 v 1978, Ö.Seçmen, G.Görk (EGE 37883!). Emet, Yeniceköy'den arpa tarlasına giden yolda, geniş çayırılıkta, çeşmelerin yanında, 1100m, 08 v 1980, G.Görk (EGE 18347!). Gediz, Murat dağı, Çukurören, çayır, 1100m, 16 v 1980, A.Çırpıcı (ISTF 34088!). Gediz, Murat dağı, Hamam yukarısı, göl yeri, orman arası açıklık, 1750m, 9 vi 1977, A.Çırpıcı (ISTF 30468!). Gediz, Murat dağı, İkizce, çayır, 1450m, 21 vi 1978, A.Çırpıcı (ISTF 32033!). Gediz, Muratdağı, Hamam Çukurören köyü arası, Yayla çayırılık *Pinus nigra* orman açıklığı, 1500m, 3 vii 1972, S.Oflaz, G.Oğuz, Ö.Seçmen, E.Leblicci (EGE 15375!). Gediz-Uşak, 55km Uşak'ın 10 km kuzeyi, *Cistus laurifolius* topluluğu, 1140m, 14 vi 1954, H.Demiriz (E ! ve ISTF 13322!). Hamam-Sobalar, çayır, 1450m, 17 v 1978, A.Çırpıcı (ISTF 31454!). İnönü-Kütahya arası, kurak tepeler, 1000m, 21 v 1966, A.Baytop, B.Çubukçu (ISTE 9347!). Simav, Kiçir-Akdağ, *Pinus nigra* ormanı, 1700m, 19 vi 1965, M.J.E.Coode ve B.M.G.Jones (E !, ISTF 20901!, ISTO 6712!). Simav'dan yaklaşık 10km, orman yolundan Simav dağına giderken, 1500-1700m, 18 vi 1965, M.J.E.Coode ve B.M.G.Jones (ISTF 20881! ve ISTO 6741!). Simav-Demirel arası, Demirci'den 11 km, *Pinus nigra* orman altı, 1350m, 9 vi 1972, S.Oflaz, G.Oğuz, Ö.Seçmen, E.Leblicci (EGE 15186!). Murat dağı, Gediz üstleri, Kesik Söğüt, 1200m, 5 vii 1962, Davis 36723 ve Coode (E !). Simav, dağ yolu, 1500-1700m, 18 vi 1965, M.J.E.Coode ve B.M.G.Jones (E !).

**Manisa:** Akhisar, Kertil mevki, *Pinus brutia* ormanı, 23 iv 1973, Öner, Seçmen, Ahmet (EGE 11391!). Akhisar-Gölmarmara, step, 29 iv 1966, H.Peşmen (EGE 4862!). Manisa dağı, 1500m, 13 vi 1966, A.Baytop, B.Çubukçu,

T.Avcıgil (ISTE 9981!). Manisa dağı, 3 v 1961, Turhan Baytop (ISTE 6428!). Manisa dağı, 4 iv 1966, N.Zeybek, C.Regel (EGE 15189!). Manisa dağı, Karlık kuzeyi, 1140m, 25 v 1984, H.Duman (GAZI 1075!). Manisa dağı, yamacı, 700m, 4 iv 1966, C.Regel, H.Peşmen, G.Oğuz (EGE 15191!). Soma, Adilköy, kuzeydoğusu, Bahçecik çeşmesi üstü, 750m, 18 v 1967, H.Peşmen, M.Aydar (EGE 15190!). Soma, Madenci çeşmesi yol kenarı, 600m, 12 v 1977, Ö.Seçmen (EGE 23753!). Çine arası, kayalık habitat, 28 iii 1979, Ö.Seçmen, Leblebici, Bekat (EGE 17273!).

**Muğla:** Karaçam ormanı altı, 1200-1350m, 18 vi 1976, Y.Akman ve Quezel (ANK 7290!); Yatağan-Gökbel, *Quercus coccifera* makisi, 300m, 20 iv 1965, Dr. Davis 41456 (ISTO 5863!).

**Samsun:** Kurupelit kampüsü, Fen-Edebiyat Fakültesi çevresi, 4 v 1995, M.Keskin 153 (ISTE 77071!). Samsun'un 8km doğusu, çayırılık, 19 v 1963, Carl Tobey 120 (E ! ve ISTO 1926!). Samsun'un 5km doğusu, Karadağ, 50m, 15 vi 1963, Carl Tobey 341 (E ! ve ISTO 2014!). Kızılırmak, Asar'dan sonra, 450m, 12 v 1967, Tobey 1782 (E !). Hacı İsmail köy, açık alanlar, 300m, 6 v 1967, Tobey 1733 (E !). Derbent, Ökçetepe'nin kuzey yamacı, Asarağaç tepe, 30-40m, 22 v 1952, H.Demiriz (E !).

**Sinop:** İnce burun, volkanik arazi, 30m, 23 iv 1966, Tobey 1621 (E !).

**Sivas:** Zara, 20 km güneyi, jipsli arazi, 1500m, 6 vii 1986, B.Yıldız (ISTE 94275!).

**Tekirdağ:** Keşan, Malkara arası, 19 v 1970, A.Baytop, F.Öktem (ISTE 17974a). Kırkgöz köyü, Londra asfaltı, kavaklık altı, 30 iv 1973, G.Ertem (ISTE 24253!). Malkara-Keşan yolu, Pişman koruluğu, 20km içeride, 12 v 1991, E.Akalın (ISTE 62892!). Seymen-Çorlu arası, Çorlu'ya 2km kala, 22 iv 1970, A.Baytop, F.Öktem (ISTE 17635!). Seymen-Çorlu arası, Çorlu'ya 7km kala, 22 iv 1970, A.Baytop, F.Öktem (ISTE 17619!).

**Trabzon:** Vakfikebir, Fol köyü, çayırılık, 1500m, 11 vii 1986, Y.Gemici (EGE 30162!).

**Van:** Özalp, Dorutay köyü batı kesimi, step, 2658m, 25 vi 1996, F.Özgökçe 2654 (VANF 3625!). Özalp, Damlacık köyü doğusu, Boncuk deresi vadisi, step, 2150m, 9 vii 1997, F.Özgökçe 5730 (VANF 3638!). Muradiye, Alkasnak köyü, Ziyaret tepesi batısı, nemli, çayırılık alan, 1900m, 12 vi 2001, O.Karabacak 1698 (VANF 3708!). Gürpınar, Hamurkesen köyünün arkaları, step, 2000m, 22 v 2002, M.Ünal 6760b (VANF 3779!). Gürpınar, Hamurkesen köyünün arkaları, step, 2000m, 22 v 2002, M.Ünal 6814 (VANF 3780!).

**Yalova:** Orhangazi yolu, 3 v 1950, A.Berk, T.Baytop (ISTE 2474!).



Figure 1. A Herbarium sheet

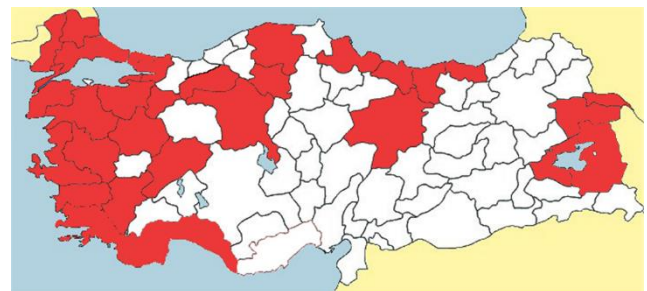


Figure 2. Distribution map

It is probably the most widely distributed and is available in many parts of Turkey. It is the most basic member of slightly moist meadows with white flowers, especially in early spring. *M. mantica* is a very characteristic species due to its double-length petals of calyx, its upright posture, and its early nature compared to other species.

### 3.3.2. *Moenchia coerulea* Boiss., *Fl. Orient. 1: 712 (1867)*. [Fig. 3, 4]

Syn.: *Cerastium coeruleum* Boiss., *Diagn. Ser. 1(1): 53 (1853)*. *M. mantica* L. var. *violascens* Azn., *Bull. Soc. Bot. Fr. 44: 166 (1897)*. *M. mantica* L. forma *coerulea* (Boiss.) Janchen, *Zwei für Österreich neue Pflanzen, 5: 59 (1907)*. *M. mantica* L. var. *jolanthae* Kováts, *Ungarische Botanische Blätter – 29: 49 (1930)*.

Holotype: Montes Smyrne, Mai 1842, Boissier (E !).

Annual herbs. Stems usually strict, simple or branched from base, dichotomous branched at upper, 10-20 cm. Leaves 7-15 x 2-4 mm, glabrous, linear-lanceolate, acute. Inflorescence strict, 2-7 flowered. Bracts broad ovate-lanceolate with broad scarious margin. Pedicels unequal, longest pedicel 40-75 mm. Sepals 5-parted, 6-9 mm, oblong-lanceolate, mauve at upper, usually veins obscure, main vein sub elevated. Petals blue-mauve, 5-parted, longer than the sepals, usually not 2 x calyx white. Stamens 10, anthers yellow. Capsule subovoid, exceeding to sepals.

Examined specimens

**Afyonkarahisar:** Bayat, Bağlık mevkiî üzeri, 1120m, 23 v 1975, Mecit Vural (ANK 198!).

**Antalya:** Akseki-Bademli arası, Toy alanı, step, 1400m, 25 v 1983, M.Koyuncu 6040-S.Erik (HUB 02879!).

**Aydın:** Eskiçine, Madrandağı, Topçam köyü güneyi, yamaçtan, 800m, 29 iv 1977, A.Yayıntaş, A.Yürül, A.Tamar; F.Seliayan (EGE 15180!).

**Denizli:** Çivril, Sorgun'dan-Kocayayla'ya çıkarken, 1250m, 5 v 1983, Y.Gemici (EGE 25460!). Sarayköy, Babadağ-Hisarköy'den Tekçam'a doğru 7km, 1050m, 22 v 1972, G.Oğuz, Ö.Seçmen, E.Leblebici, T.Kesercioğlu (EGE 15181!).

**Edirne:** Merkez, Edirne'nin 8km batısı, 100m, 19 iv 1966, Davis 41971 (E !).

**Elazığ:** Kup dağı, Sumalı yayla yeri, *Quercus* topluluğu, 1600m, 10 v 1982, H.Susen (ANK 1089!).

**Isparta:** Şarkikaraağaç, Kızıldağ milli parkı, Kolonkaya kuzey yamaç, 1200m, 11 v 1995, B.Mutlu 1351 (HUB 37178). Sütçüler, Kuzca köyü, Kuzcalan, *Astragalus* stebi, kırmızı toprak, 1350m, 5 vi 1975, H.Peşmen-A.Güner 2062 (HUB 02875!).

**İstanbul:** Arnavutköy, Durusu, İSKİ girişi, 70m, 19 v 2017, M.Keskin 7092, N.Özhatay, E.Özhatay!. Arnavutköy, Durusu kumul girişi, 8m, 19 v 2017, M.Keskin 7116, N.Özhatay, E.Özhatay !. Terkos gölü, Karaburun'dan Tahlisiye'ye doğru, kumluk yol kenarı, *Quercus* makiliği, 50-60m, 8 v 1962, Dudley 34535 (E !).

**İzmir:** Bornova, Kurudere, Karaçoban mevkiî, 6 v 1971, M.Aydar, C.Ödemiş (EGE 15188!). Bornova: Kurudere köyü, Mengene mevkiî, 6 v1971, Aydar Ödemiş, (EGE 11656!). Kemalpaşa, Nifdağı, zirve yolu, yangın kulesine doğru, 1300m, 16 v 1975, Ö.Seçmen, E.Leblebici (EGE 24322!). Kemalpaşa, Nif dağı, 600m, 27 iv 1987, N.Zeybek (IZEF 2703!). Kemalpaşa, Nif dağı, Manastır kalesi, 450m, 9 v 1992, N.Zeybek (IZEF 1652!). Ödemiş: N Birgi, 500m, 17 v 1993, E.Sauer (IZEF 1254!). Yamanların şarkı ve karaçamdaki kurak otlaklarda, 900-1200m, v.1932, O.Schwarz (EGE 23174!). Bozdağ: pinetum, 1400m, 5 vii 1968, Huber-Morath (ISTO 15095!). İkikardeş, 15 v 1906, J.Bornmüller 9157 (E !). İzmir dağları, vi 1842, E.Boissier (E !).

**Muğla:** Eskiçine'ye gelmeden, Çine çayı, 5 iv 1995, N.Keyikçi, A.Er, G.Görk (EGE 18984!). Muğla, *Pinus brutia*, 19 iv 1965, C.Regel (EGE 15182!). Yatağan-Çine arası, Gökbel mevkiî, granit kayalıkları, 300m, 2 v 1982, T.Ekim ve M.Koyuncu 5152 (AEF!). Yatağan-Çine, *Quercus coccifera* çalılıkları arası, 100m, 1 iv 1956, Davis 25553 et O.Polunin (E ! ve ANK!). Yatağan ile Gökbel arası, *Quercus coccifera* makiliği açıklıkları, 300m, 20 iv 1965, Davis 41456 (E !).

**Samsun:** Ladik istasyonu, Karadağ, 1050m, 8 v 1965, C.Tobey 948 (E !).



Figure 3. A Herbarium sheet



Figure 4. Distribution map

The most characteristic feature of the *M. coerulea* is the presence of blue to the purple corolla. This species is strictly related to *M. mantica*. But it is distinguished by the following characters:

- 1) Corolla blue to purple
- 2) Small, linear-lanceolate leaves
- 3) Corolla longer than calyx but never 2-fold
- 4) Capsule equal to sepals or slightly longer than sepal

### 3.3.3. *Moenchia akmanii* M.Keskin sp. nov. [Fig. 5, 6]

Type material: Türkiye, Ankara: Beypazarı, Eğriova, yavaş akan dereciklerde, 1550m, 26 vi 1973, Y.Akman (ANK 8518!).

**Diagnose:** *Moenchia akmanii* M.Keskin is close to *M. graeca* Boiss. & Heldr. but differs from it by its long stems (short in *M. graeca*); cauline leaves 4-6 pairs, 20-35 x 1.0-2.0 mm (2-4 pairs, 4-14 x 1.5-2.5 mm in *M. graeca*); axillary shoots present (absent in *M. graeca*); flowers 4-9 (1-5 in *M. graeca*); 5-6 x 1.8-2 mm, caudate at anthesis and 3-nerved (7 x 3 mm, acute at anthesis and 1-elevated nerved in *M. graeca*); anthers mauve (yellow in *M. graeca*).

**Description:** Annual herbs. Stems green, thin and flexible, 20-36 cm. Basal leaves linear, more or less withered at anthesis. Internodes very long. Cauline leaves 4-6 pairs, 20-35 x 1.0-2.0 mm, linear-elliptic, acute, not glaucous, 1-main vein. More axillary shoots present. Bracts 3-5 mm, elliptic with broad scarios margins, midvein brownish, and first bracts fimbriate at the base. Inflorescences 4-9 flowered, axillary; each flower supported by two bracts. Flowering pedicels 10-15 mm; fruiting pedicels 30-40 mm, 5-7 times as long as calyx, distinctly thickened above. Sepal 5; 5-6 x 1,8-2 mm at anthesis, narrowly lanceolate, with narrow scarios margins, caudate; 3-nerved, not indurate, and decurrent



to the base of calyx. Petal 5, white, as long as sepals or rarely exceeding, spatulate. Stamens 10; anthers mauve. The capsule as long as sepals (submature). Seeds c. 0,5 mm.

Flowering time: June (probably to July).

Habitat: Slow flowing streams, meadows

Etymology: This new species named after Professor Yıldırım Akman who is a leading Ecologist, author, and collector of this sample.

Examined specimens:

Ankara: Beypazarı, Eğriova, Orman açıklığı, 36 T 0417361,4481291, 1598m, 12 vi 2014, Haşim Altınözlü, M.Erol Demirbilek (NGBB 004337!).

Notes: *M. akmanii* is probably only an endemic species of Eğriova/Beypazarı.

The proposed new species is strictly related to *M. graeca*. Differences are summarized in table 1. Nevertheless, the first impression as a general structure seems to be the *M. mantica* type, but it is easily separated from the corolla as sepal or short, linear leaves, etc.

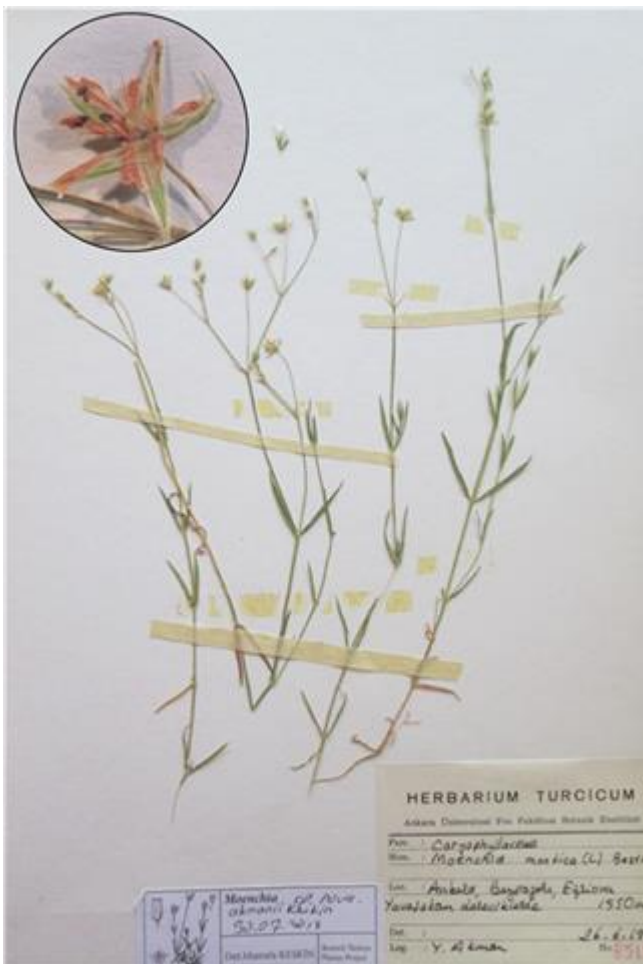


Figure 5. A Herbarium sheet (Holotype)



Figure 6. Distribution map

Table 1: Differences between *M. graeca* and *M. akmanii*

	<i>graeca</i>	<i>mantica</i>	<i>akmanii</i>
<b>Stem height</b>	4-15 cm, tinged purple	10-40 cm	<b>20-36 cm, green, somewhat flexuous</b>
<b>Basal leaves</b>	Oblanceolate, more or less withered at anthesis.	Linear to oblanceolate, more or less withered at anthesis.	<b>linear</b> , more or less withered at anthesis
<b>Cauline leaves</b>	2-4 pairs, 4-14 x 1.5-2.5 mm, linear-elliptic, subacute, somewhat glaucous.	3-5 pairs, 15-20 x 3-5 mm, glabrous, lanceolate to very narrowly elliptic-lanceolate	<b>4-6 pairs, 20-35 x 1.0-2.0 mm</b> , linear-elliptic, acute, <b>not glaucous</b>
<b>Axillary shoots</b>	Absent	Absent	<b>Present</b>
<b>Bracts</b>	Elliptic with broad scarious margins, midvein green	Ovate to lanceolate with broad scarious margins	<b>First bracts fimbriate</b> at the base, elliptic with broad scarious margins, <b>midvein brownish</b>
<b>Inflorescences</b>	Apical	Apical	<b>Axillary</b>
<b>Flowers</b>	1-5	3-8	<b>4-9</b>
<b>Fruiting pedicels</b>	2-8 times as long as calyx, distinctly thickened above.	3-7 times as long as calyx, distinctly thickened above.	<b>5-7 times as long as calyx</b> , distinctly thickened above.
<b>Sepals</b>	7 x 3 mm at anthesis, elliptic to broadly lanceolate, acute with broad scarious margins; 1-nerved, midvein thickened and indurate in fruit others not elevated, especially towards base.	6-9 mm at anthesis, broad and lanceolate, elevated 1-veined, and c.10 thin vein.	<b>5-6 x 1.8-2 mm at anthesis</b> , narrowly lanceolate, with narrow scarious margins, <b>caudate; 3-nerved, not indurate</b>
<b>Petals</b>	2/3 as long as sepals, elliptic-oblong, obtuse	slightly 2 x longer than the sepals, oblong to subspathulate or broadly spathulate to oblong or cuneate at base	as long as sepals or rarely exceeding, <b>spatulate</b>
<b>Anthers</b>	Yellow	Yellow	<b>Mauve</b>
<b>Capsule</b>	2/3 as long as sepals, ellipsoid	Ovoid, at most equal to sepal	as long as sepals (sub mature)
<b>Seeds</b>	0.5-0.6 mm.	0.8-1.1 mm	c. 0.5 mm

### 3.3.4. *Moenchia graeca* Boiss. & Heldr., *Diagn. Ser.* 2(1): 91 (1853). [Fig.7, 8]

Type: Many syntypes from Greece.

Small annual herbs. Stems 2-15 cm, usually unbranched. Basal leaves oblanceolate and more or less withered at anthesis; cauline leaves 2-4 pairs, 4-14 x 1.5-2.5 mm, linear-elliptic, subacute. Inflorescence 1-5 flowered. Bracts elliptic with broad scarious margins. Pedicels 2-8 times as long as calyx, distinctly thickened above. Sepals 7 x 3 mm at anthesis, elliptic to broadly lanceolate, acute with broad scarious margins; midvein thickened and indurate in fruit. Petals shorter than sepals, elliptic-oblong, obtuse. Capsule shorter than sepals. Seeds 0.5-0.6 mm.

Examined specimens

**Denizli:** Baymanlı mevkii, 700m, 18 v 1973, E.Tuzlacı (ISTE 24867!).

**İzmir:** Karaburun, Akdağ, 550m, 11 iv 1982, Sauer, E. et al. (IZEF 947!).

**Manisa:** Kula, lav akıntıları, 700m, 21 vi 1965, M.J.E.Coode ve B.MG.Jones (E !).



Figure 7. A Herbarium sheet



Figure 8. Distribution map

*M. graeca* is a little known species in Turkey. It is probably present in all Aegean and Mediterranean coasts. It is easily overlooked because of its small structure, short corolla, and early flowering phase.

### 3.3.5. *Moenchia erecta* (L.) P.Gaertn., B.Meyer & Scherb., *Fl. Wett.* 1: 219 (1799).

Small annual herbs. Stems 2.5-15 cm, glabrous, usually glaucous. Leaves somewhat petiolated at the base, 5-18 mm, linear to oblanceolate; cauline leaves sessile, 3-12 mm, linear to lanceolate, ascending, subrigid, acute. Inflorescences loose, a few-flowered. Bracts ovate-lanceolate with broad scarious margin. Pedicel unequal, longest pedicel 25-65 mm. Sepal 4; 4.5-7 mm, 3-veined, lateral faint, linear-lanceolate with broad scarious margin. Petals 4; linear-lanceolate, white, shorter than sepals. Stamens 4 or 8. Stillus 4 (-5). Capsule equalling or slightly longer than sepals, more or less cylindrical. Seeds reddish-brown, finely tuberculate, 0.5-0.7 mm diam.

#### a. var. *erecta* [Fig.9,10]

Type: Lectotype, Herb. Linn. No. 177.3 (LINN).

Syn.: *Sagina erecta* L., *Sp. Pl.*: 128 (1753). *Cerastium tenue* Viviani, *Fl. Cors.* 7 (1824). *M. quaternella* Ehrh., *Beitr. Naturk.*, 2: 180 (1788) nom. illeg. *M. glauca* Pers., *Syn. Pl.*, 1: 153 (1805) nom. illeg. *Cerastium quaternellum* Fenzl, *Verbreit. Alsin.*: 56 (1833) nom. illeg. *Cerastium glaucum* Gren., *Mém. Soc. Émul. Doubs*, 1: 47 (1841). *Cerastium erectum* (L.) Cosson & Germain, *Fl. Env. Paris*, éd. 1: 30 (1845).

Longest pedicel 25-55 mm. Sepal 4; 6-7 mm, glabrous, veined. Petal 1/2 to 2/3 as long as sepals, usually subdentate. Stamens 4. Capsule equalling or slightly exceeding sepals.

#### Examined specimens

**Edirne:** Keşan-Enez yolu, Kılıçköy'den 1.5km önce, -merada otluk çukurlar ve tepelikler üzerinde- 18 iv 1992, A.Byfield B 22, (ISTE 64848!).

**İstanbul:** Kısırkaya köyü ile plaj arasında, yamaçlarda, iv 1992, A.Byfield B114 (ISTE 64884!). Pendik, Kurtköy, çataldağı, çayırliklar ve kıraç kayaliklar, 30 iv 1995, A.J.Byfield B 2145 (ISTE 69498!). Yeşilköy havalimanı, 15 km W (E5), yol kenarı çayır, genç *Pinus* plantasyonunda, 9 iv 1972, I.Kukkonen (ISTF 25907!).

**İzmir:** Yamanlar dağı, Karagöl'den Maninsa geçidine doğru ormanlık dağ yolu, 9 vii 1966, R.Alava 5104 ve G.Bocquet (E !).

**Muğla:** Çine'den Yatağan'a giderken 15.km, nehir üstlerinden kayalık yamaçlarda, kış aylarında oluşan su sızıntıları arasında, otlakta, 24 iv 1992, A.Byfield B44 (ISTE 64870!). Marmaris körfezinde, Yıldız adası, 150m, iii 1993, A.Byfield B 134 (ISTE 65739!).

**Tekirdağ:** İncik-Yenice, Yenice'den 7.2km önce, 18 iv 1992, A.Byfield B 10 (ISTE 64836!).

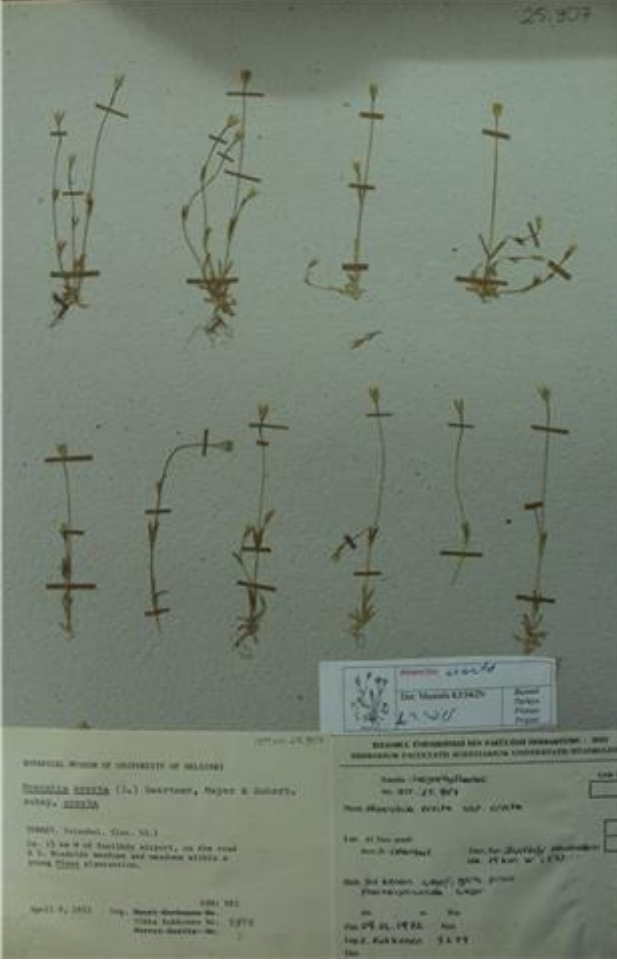


Figure 9. A Herbarium sheet



Figure 10. Distribution map

b. var. *octandra* (Ziz ex Mert. & W.D.J.Koch) M.Keskin stat. nov. [Fig.11, 12]

Type: Described from Germany.

Syn.: *M. octandra* Rchb., Fl. Germ. Exc.: 703 (1832). *M. octandra* (Ziz ex Mert & W.D.J.Koch)J.Gay, Perrym. Pl. Phan. Frejus 55 (1833). *M. quaternella* Ehrh. β. *octandra* Moris, Fl. Sard., 1: 269 (1837). *M. quaternella* Ehrh. subsp. *octandra* (Rchb.) Nyman, Consp. Fl. Eur. 111 (1878). *Sagina octandra* Ziz ex Mert. & W.D.J.Koch, Deutschl. Fl., ed. 3, 1: 864 (1823). *M. erecta* subsp. *octandra* (Ziz.)Coutinho, Fl. Portugal: 211 (1913).

Longest pedicel 50-65 mm. Sepal 4; 4-5 mm, glabrous, veined, usually subdentate. Petal 4, about as long as sepals or a little shorter. Stamens 8. Capsule scarcely equalling the sepals.

Examined specimens

**İstanbul:** Adalar: Büyükada, adanın arka tarafı, çayırlik, 17 iv 2017, M.Keskin 6914a!. Adalar: Burgazada, 18 v 1893, Aznavour (E !). Sancaktepe, Turkuaz su fabrikası yakınları, Fabrikalar alanı, çayır, 15 iv 2017, M.Keskin 6814!. Zincirli to Şişli, 6 iv 1898, Aznavour (E !).

**İzmir:** Emiralem, Manisa ile Menemen arası, 6 iv 1974, K.Lewejoann (Tu-74-203) ve F.Holtz (E !).



Figure 11. A Herbarium sheet



Figure 12. Distribution map

*M. erecta* is generally similar to the *M. graeca*. It is easily separated from the thickened pedicels, stamens with small numbers, and 4-part flowers. This species probably has a wider distribution in Turkey.

#### 4. Conclusions and discussion

Although *Moenchia* is similar to *Cerastium* in general structure, it is separated from it by whole petal and calyx vein with prominent back.

In this study, it is reported to six *Moenchia* taxa in Turkey. *Moenchia* is not a widely known genus in Ankara province. Although there are many flora articles, this genus has never been reported [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. One of them is the new species as *M. akmanii* M.Keskin. Although it looks like *M. mantica* in terms of appearance, its basic taxonomic characters are close to the *M. graeca*.

A new identification key to the species of *Moenchia* has been organized in Turkey. All herbarium records and distribution maps of the studied species have been prepared.

#### Acknowledgments

I would thank them for the fact that some herbarium visits for this study are supported by the ANG foundation..

#### References

- [1] Strid, A. (1997). *Moenchia* L. In K. Tan & A. Strid. (Eds.), *Flora Hellenica* (vol.1: 214-215). Koeltz Scientific Books, D-6240 Königstein/Federal Republic of Germany.
- [2] Keskin, M. (2012). *Moenchia* L. In A. Güner & al. (Eds.), *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) [A Checklist of the Flora of Turkey (Vascular Plants)]*. Nezahat Gökyiğit Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. (pp. 348-349). İstanbul. (in Turkish).



- [3] Boissier, E. (1867). *Moenchia* L. *Flora Orientalis: sive, Enumeratio plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum* (vol.1: 711-712). Genevae.
- [4] Cafferty, S. & Jarvis E. C. (Eds.). (2004). Typification of Linnaean plant names in Caryophyllaceae. *Taxon* 53 (4): 1049-1054. <https://doi.org/10.2307/4135573>.
- [5] Clapham, A. R. (1964). *Moechia* L. In T. G. Tutin & al. (Eds.), *Flora Europaea* (vol. 1: 145-146). Cambridge at the University Press.
- [6] Cullen, J. (1968). *Moenchia* L. In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* (vol. 2: 87-89). Edinburgh University Press.
- [7] Ehrhart, F.J. (1778). *Beiträge zur Naturkunde, und den damit verwandten wissenschaften, besonders der botanik, chemie, haus- und landwirthschaft, arzneigelahrtheit und apothekerkunst*. (vol.2: 177). Hannover & Osnabrück.
- [8] Strid, A. (1991). *Moenchia* L. In K. Tan & A. Strid. (Eds.), *Mountain Flora of Greece* (vol.2: 122). Edinburgh University Press.
- [9] Yeşilyurt, E. B., Kurt, L. & Akaydın, G. (2008). A Study on Flora of Hacıkadın Valley (Ankara/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 1/2: 25-52.
- [10] Aslan, S. & Vural, M. (2009). Flora of Kıbrıs Köyü Valley (Mamak-Ankara, Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 2/3: 34-64.
- [11] Karaman-Erkul, S. & Aytaç, Z. (2011). Flora of Duatepe and its environment (Polatlı- Ankara/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 4/1: 17-29.
- [12] Çakır, E. G., Akdoğan, G. E. & Meral, G. (2015). The flora of Sarıçalı Mountain and arounds (Nallıhan, Ankara/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 8/3: 267-289.
- [13] Çakmak, M. H. & Aytaç, Z. (2018). Urban vascular flora and ecological characteristics of Mamak District (Ankara/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 11/2: 123-131. 784491.
- [14] Başköse, İ., Körüklü, S. T. & Yapyak, A. E. (2020). The Plant biodiversity of Ankara University 10. yıl (Beşevler) campus. *Biological Diversity and Conservation* 13 / 1: 217-231. DOI: 10.46309/biodicon.2020.
- [15] Çelik-Gündoğmuş, İ. & Ekici, M. (2021). Flora of Yassihöyük (Gordion) (Polatlı/Ankara/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 14/1: 53-68. DOI: 10.46309/biodicon.2021.830260..





## Investigation of apoptotic activities of NOE on human ovarian cancer cells

Mustafa ALBAYRAK<sup>\*1</sup>, Hatice Mehtap KUTLU<sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0003-2941-7574; 0000-0002-8816-1487

<sup>1</sup> Florence Nightingale Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Istanbul, Turkey  
<sup>2</sup> Eskişehir Technical University, Faculty of Science, Department of Biology, Eskişehir, Turkey

### Abstract

Ovarian cancer is one of the most malignant cancers of the reproductive system of women. Along with the other cancer types, ovarian cancer requires alternative agents for treatment due to the limited efficiency and strong side effects of classical chemotherapeutics and long treatment process. Recently, cancer investigations are focused on intracellular targets for cancer therapy. Sphingolipid molecules, especially ceramides of them are reported as potent targets for cancer therapy. Increased levels of ceramides into the cancer cells induce apoptosis and this increase can be caused by suppressing ceramidases via new generation inhibitors of the enzymes. In this study, NOE (Oleoyl ethanolamide), a ceramidase inhibitor was used to cause cytotoxicity and induce apoptosis in human ovarian cancer cells, OVCAR-3. Our results clearly showed that NOE significantly reduced cell viability and caused cytotoxicity together with morphological changes indicating apoptosis that is proved with the flow cytometry results. NOE is proposed for a candidate for designing anti-cancer agent after further investigations.

**Keywords:** NOE, OVCAR-3, cytotoxicity

----- \* -----

## İnsan yumurtalık kanseri hücrelerinde NOE'nin apoptotik etkilerinin araştırılması

### Özet

Yumurtalık kanseri, kadınların üreme sistemindeki en kötü huylu kanserlerden biridir. Diğer kanser türleri ile birlikte yumurtalık kanseri, klasik kemoterapötiklerin sınırlı etkinliği ve güçlü yan etkileri ve uzun tedavi süreci nedeniyle tedavi için alternatif ajanlara ihtiyaç duymaktadır. Son zamanlarda, kanser araştırmaları, kanser tedavisi için hücre içi hedeflere odaklanmaktadır. Sphingolipid molekülleri, özellikle seramidler, kanser tedavisi için güçlü hedefler olarak gösterilmektedir. Seramidlerin kanser hücrelerinde artan miktarları, apoptozu indüklemektedir ve bu artış, seramidazların yeni nesil enzim inhibitörleri yoluyla baskılanmasından kaynaklanabilmektedir. Bu çalışmada, insan yumurtalık kanseri hücreleri OVCAR-3'te sitotoksositeye yol açmak ve apoptozu indüklemek için bir seramidaz inhibitörü olan NOE (Oleoyl ethanolamide)'i kullanılmaktadır. Sonuçlarımız, NOE'nin hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını ve akış sitometri sonuçları ile kanıtlanmış apoptozu gösteren morfolojik değişikliklerle birlikte sitotoksositeye neden olduğunu açıkça göstermiştir. NOE, daha ileri araştırmalardan sonra anti-kanser ajanı tasarlanması için aday olarak tarafımızdan önerilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** NOE, OVCAR-3, sitotoksosite

### 1. Introduction

Lipids have been reported to had role as a main structural component of cellular membranes. They have been involved in maintaining the structural and functional integrity of membranes. In recent years, it has been shown that the key biological role of lipids in the cells is cellular signalling as a member of secondary messengers in varying cellular

processes such as cell proliferation and division. Lipids comprise of varying lipid classes of which sphingolipids are important both for membrane structure and cell signalling as secondary messengers in the cell. These molecules are named as the most significant lipid messengers. Biological activities of sphingolipids depends mainly on the length of carbon chain. Characteristics of the sphingolipid members are that they consist of 18-carbon atoms and are long-chain alcohol-based lipids containing sphingosine instead of glycerol. The membranous organel where sphingolipids are generated is endoplasmic reticulum. Due to the active roles in different biological processes in the cells as regulators in various cellular processes like growth, proliferation, stress response, differentiation and cell death (autophagy and apoptosis), sphingolipids are reported as potential targets in cancer research and therapy [1].

Ceramide, a sphingolipid member, is one of the main components of the cellular membrane and is involved in the protection of cell from stress signals and conditions [2]. It has been well documented for ceramide to induce apoptosis when its intracellular levels are increased based on various stimulants such as stress and toxic substances [3]. In addition, it is stated that the investigation of sphingolipid metabolism and the importance of ceramide are vital and promising in the treatment of complex diseases as cancer [3]. Intracellular ceramide levels can be decreased by a variety of enzymes that hydrolyze ceramide or convert it to sphingosine in turn direct cells to the survival and proliferation. Thus inhibitors of ceramidase enzymes are reported as main tumor suppressing agents [3]. Oleoyl ethanolamide has been reported as of the first inhibitors of ceramidases that is an endogenous fatty acid ethanolamine and a lipid mediator [4,5]. Ceramidase inhibitors are known to induce apoptosis by causing ceramide accumulation [5-7].

Ovarian cancer is a frequent cancer type with high mortality and morbidity in women in the world [8-10]. The malignancy of this cancer type is mainly attributed to high metastatic capability [10]. Classical chemotherapy agents cause strong side effects that lead to difficulties and decrease the living quality of the patients [11]. Based on the data in this study it was aimed to investigate the cytotoxic, antiproliferative and apoptotic effects of N-Oleoyl ethanolamide (NOE) on human ovarian cancer cells OVCAR-3.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Human ovarian cancer cell line (OVCAR-3) was obtained from the American Type Culture Collection (Manassas, USA). N-Oleoylethanolamide, MTT, fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin and RPMI-1640 were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), Annexin-V and Dead Cell Assay Kit was purchased from (Merck, Millipore, Hayward, California, USA).

### 2.2. MTT assay

Oleoylethanolamide (NOE) was dissolved in DMSO to prepare a stock solution. 100  $\mu$ M and lower dilutions were obtained with complete RPMI-1640. NOE concentrations between 100-3,125  $\mu$ M were applied to OVCAR-3 cells ( $5 \times 10^3$ /well) in 96 well culture plate in triplicates. OVCAR-3 cells were incubated for 24 hours at 37°C and 5% CO<sub>2</sub> incubator. 20  $\mu$ L of MTT stock solution (5 mg/mL) was added per well and incubated again for 2 hours in the incubator. After the incubation liquids of the wells were changed with DMSO (200  $\mu$ L/well) and read on an ELISA reader (HTX Synergy, BioTek, USA) at a wavelength of 570 nm (n = 3). Based on the obtained absorbances the viability percentages were calculated compared to control OVCAR-3 cells absorbance. The half maximal inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) of NOE on OVCAR-3 cells was detected from the obtained viability percentages and this value was used for further evaluations in this study [12].

### 2.3. Confocal microscopy for morphological changes

OVCAR-3 cells were plated on coverslips in a 6 well plate in triplicates to test the potent morphological changes of NOE. The plated cells were treated with the IC<sub>50</sub> concentration of NOE for 24 hours under the same incubator conditions. Following the incubation OVCAR-3 cells were washed in PBS, fixed with glutaraldehyde and stained in phalloidin and acridine orange. All cell samples were imaged under a confocal microscope (Leica, TCS SP5 II, Germany) and evaluated for the morphological changes [13].

### 2.4. Annexin-V staining

Apoptosis triggering effect of NOE on OVCAR-3 cells was tested with annexin-V staining technique. For this manner OVCAR-3 cells were exposed to IC<sub>50</sub> concentration of NOE for 24 hours in 6 well plates in cell culture incubator conditions. After the incubation period each cell group was added to separate tubes (100  $\mu$ L) and 100  $\mu$ L/tube of Annexin-V reagent was added. Test tubes were incubated for 15 minutes at room temperature in the dark. All samples were read on a Muse™ Cell Analyzer (Merck, Millipore, Hayward, California, USA) according to the instructions of the manufacturer of Muse® Annexin-V and Dead Cell Assay Kit [13].

### 2.5. Statistical analysis

The statistical analysis of the values were evaluated with one way Anova and Tukey post-test of Graphpad Prism 6.0. Obtained results were taken in consideration as statistically significant with the p value of <0.05.

## 3. Results

### 3.1. MTT assay results

The antiproliferative and cytotoxic activity of NOE on OVCAR-3 for 24 hours was detected via MTT colorimetric assay. The viability of OVCAR-3 cells was detected to be decreased by an increase in the applied NOE concentration. The highest decrease was detected after the applied the highest concentration of 100  $\mu\text{M}$  of NOE. Growth inhibition was statistically significant in applied doses of 100-6,25  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.05$ ). The lowest concentration of NOE (3,125  $\mu\text{M}$ ) was found to be slightly effective in decreasing the viability of OVCAR-3 cells in the exposure time of 24 hours but the decrease was not statistically significant (Figure 1).

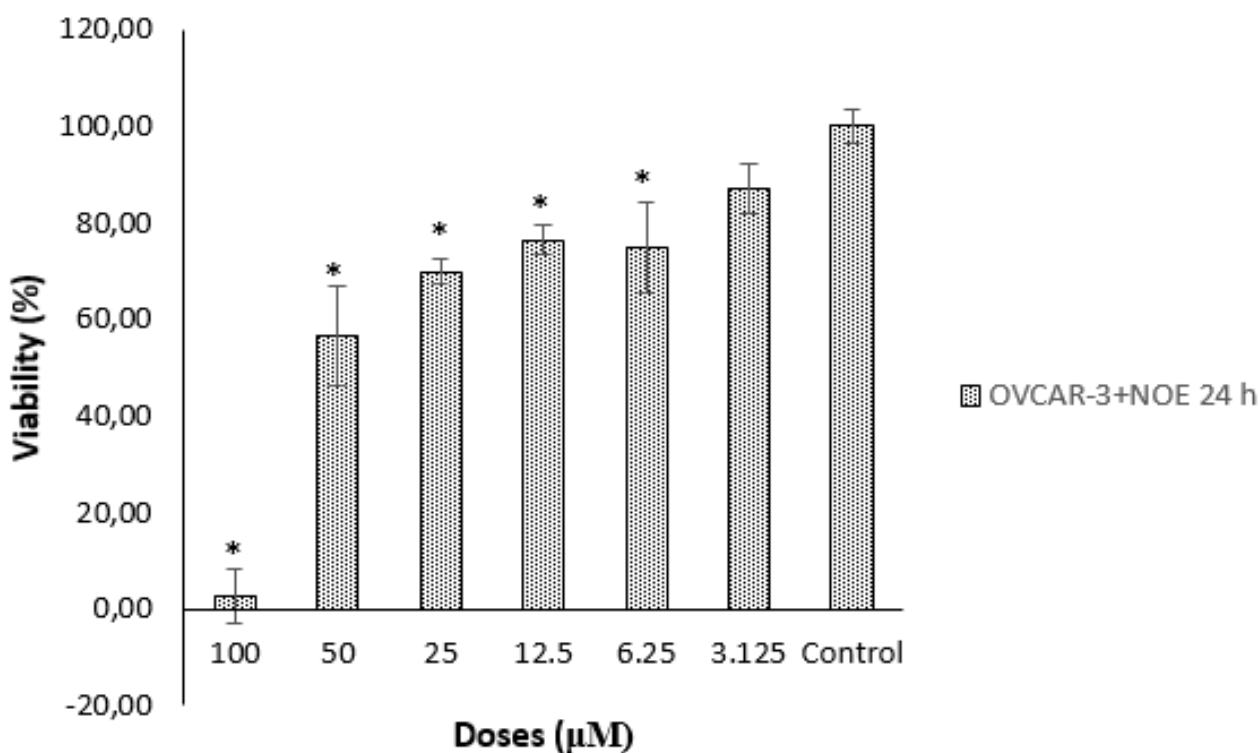


Figure 1. Growth inhibitory activity of NOE on OVCAR-3 cells for 24 hours.  $\text{IC}_{50}$  concentration of NOE on OVCAR-3 cells was detected as 56,07  $\mu\text{M}$  for 24 hours

### 3.2. Confocal microscopic results

Confocal microscopic evaluation was performed for detection of the morphological changes on OVCAR-3 cells caused by NOE. OVCAR-3 control cells were not treated with NOE and were found to be with compact and undamaged morphology. Whereas, OVCAR-3 test cells that were treated with the  $\text{IC}_{50}$  value of NOE for 24 hours were morphologically changed. The nuclei of OVCAR-3 cells exposed to NOE were shrank and with condensed chromatin. Holes on the cytoskeleton and fragmentations on nuclei were other changes detected in OVCAR-3 cells exposed to NOE (Figure 2).

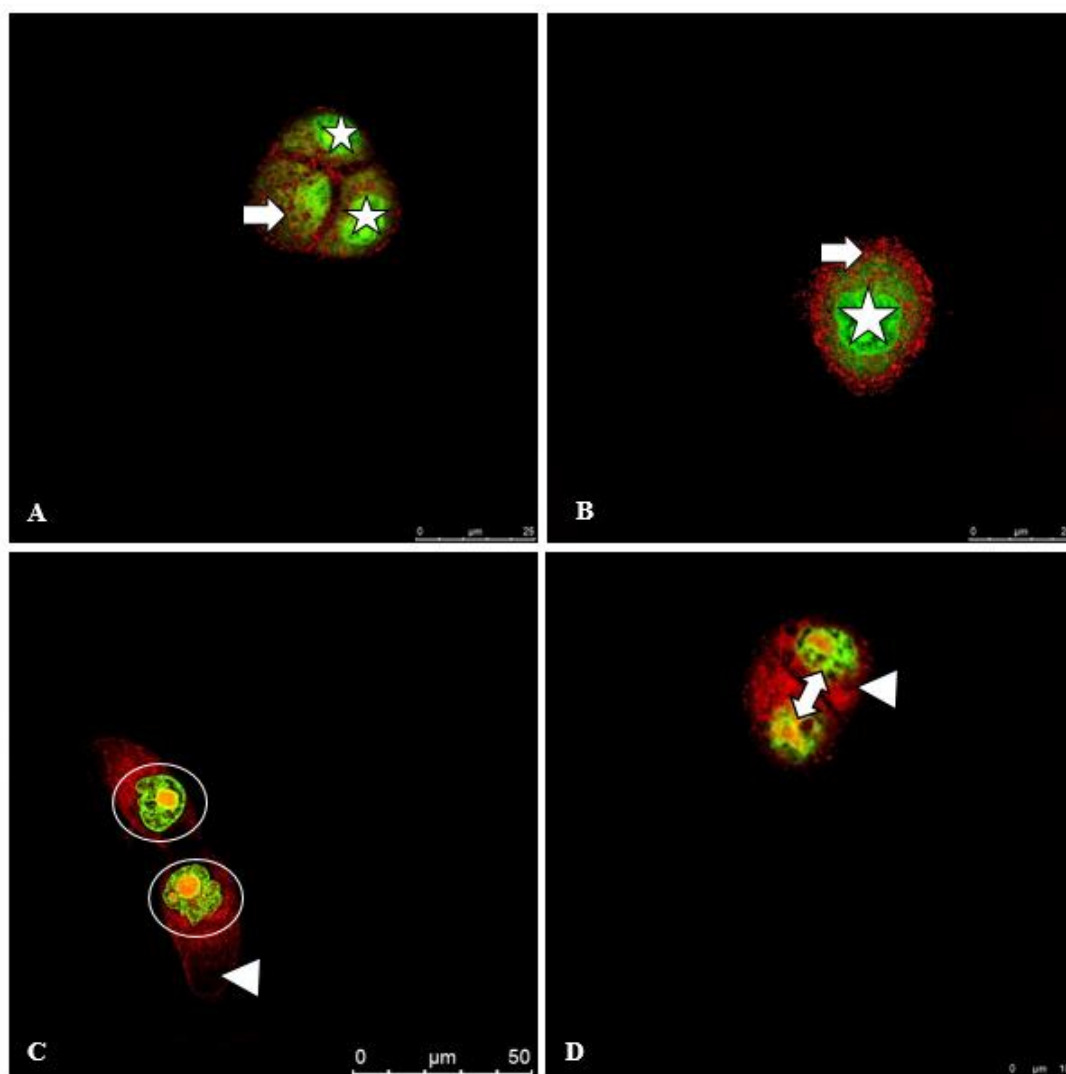


Figure 2. Confocal microscopic micrographs of OVCAR-3 cells stained with acridine orange and phalloidine. A, B. OVCAR-3 control cells: Asterisk-Nucleus, Arrow-Cytoskeleton. C, D. OVCAR-3 cells exposed to  $IC_{50}$  dose of NOE for 24 hours: Arrowhead-Holes on cytoskeleton, Circle-condensed and shrank nucleus, Double-headed arrow-Fragmented nucleus

### 3.3. Annexin-V findings

Annexin-V staining results showed that treatment with NOE of human ovarian cancer cells for 24 hours triggered apoptosis. The viability of OVCAR-3 cells was found to be decreased to 76.10% in comparison with that of control OVCAR-3 cells that were with a viability percentage of 99.19. In control OVCAR-3 cells the total percentage of apoptotic cells was found to be approximately 1% whereas this percentage was detected as 23.65% after short-term cure with NOE. 21.11% of the total apoptotic cells in the profile of OVCAR-3 cells was found to be belong to early apoptotic stage and 2.54% were late apoptotic or death cells (Figure 3).

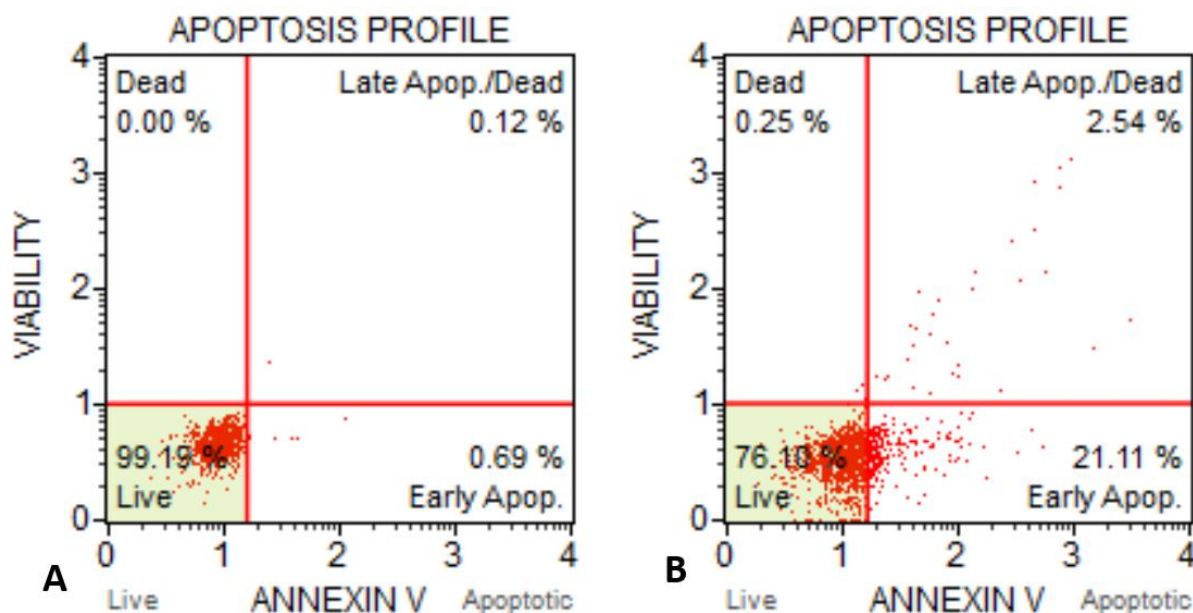


Figure 3. Annexin-V staining results of OVCAR-3 cells. A-Untreated OVCAR-3 cells (Live cells 99.19%, Early apoptotic cells 0.69%, Late apoptotic cells 0.12%). B-OVCAR-3 cells treated with IC<sub>50</sub> concentration of NOE for 24 hours (Live cells 76.10%, Early apoptotic cells 21.11%, Late apoptotic cells 2.54%)

#### 4. Conclusions and discussion

Ovarian cancer belongs to the class of the most malignant cancers of the reproductive system of women. Recent studies on cancer aimed to find and use alternative agents for current chemotherapeutics and mainly focused on intracellular targets in signalling pathways as sphingolipid metabolism [14,15]. Herein, NOE was investigated as an inhibitor of ceramidase enzyme in the manner of cytotoxicity and proapoptotic activity on human ovarian cancer cells, OVCAR-3. MTT results indicated that NOE significantly inhibited the growth of OVCAR-3 cells in short-term application of 24 hours in concentration-dependent manner (Figure 1). This inhibition or antiproliferative activity may be attributed to the ceramide accumulation after treatment with the NOE that is a inhibitor of ceramidase enzyme. Researchers have reported that ceramide accumulation plays important roles in cancer cell proliferation and motility and that intracellular signalling pathways are proposed as a therapeutic target in ovarian cancer cells due to its frequent activity [8]. Another cancer researcher group have reported that cancer cells migrate and metastasize with compact actin cytoskeleton that means promote cancer progress [11]. Our confocal microscopy results (Figure 2) indicated that the morphology of OVCAR-3 cells is highly changed after treatment with NOE for 24 hours. The main changes were detected to be damages on cytoskeleton as holes and chromatin condensation and shrinkage of the nuclei. These changes were evaluated as apoptotic sparks as well as might be signs of disrupted migration and metastasis capacity of OVCAR-3 cells. Similar morphological changes were found by other researchers on human lung adenocarcinoma cells (A549) after the exposure to a ceramidase inhibitor (B13) [12]. Moreover, ceramide has been reported as an apoptosis-triggering agent in cancer cells in its intracellular high levels [7]. Parallely with this claim, in this study apoptosis was induced by the applied NOE on OVCAR-3 cells (Figure 3). The triggered cell death may be attributed to the increased intracellular ceramide levels due to the inhibition of ceramidases by applied NOE but the detailed mechanisms need to be uncovered.

As a conclusion in this study, it was showed that NOE as a ceramidase inhibitor suppress cell growth, cause cytotoxicity and induce apoptosis in human ovarian cancer cells OVCAR-3 and is proposed for deeper evaluations as growth-suppressor agent in cancer cells..

#### References

- [1] Gault, C. R., Obeid, L. M. & Hannun, Y. A. (2010). An overview of sphingolipid metabolism: from synthesis to breakdown. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 688, 1-23.
- [2] Mashhadi Akbar Boojar, M., Mashhadi Akbar Boojar, M. & Golmohammad, S. (2018). Ceramide pathway: A novel approach to cancer chemotherapy. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 237-244.
- [3] Ogretmen, B. & Hannun, Y. A. (2004). Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Cancer*, 4(8), 604-616.

- [4] Sugita, M., Williams, M., Dulaney, J. T. & Moser, H. W. (1975). Ceramidase and ceramide synthesis in human kidney and cerebellum. *Biochimica et Biophysica Acta*, 398, 125-131.
- [5] López-Rodríguez, M., Viso, A., Ortega-Gutiérrez, S., Díaz-Laviada, I., López-Rodríguez, M. L., Viso, A. & Díaz-Laviada, I. (2005). Involvement of cannabinoids in cellular proliferation. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 5(1), 97-106.
- [6] Liu, X., Cheng, J. C., Turner, L. S., Elojeimy, S., Beckham, T. H., Bielawska, A. & Norris, J. S. (2009). Acid ceramidase upregulation in prostate cancer: role in tumor development and implications for therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 13(12), 1449-1458.
- [7] Saied, E. M. & Arenz, C. (2016). Inhibitors of ceramidases. *Chemistry and Physics of Lipids journal*, 197, 60-68.
- [8] Kitatani, K., Usui, T., Sriraman, S. K., Toyoshima, M., Ishibashi, M., Shigeta, S., Nagase, S., Sakamoto, M., Ogiso, H., Okazaki, T., Hannun, Y. A., Torchilin, V. P. & Yaegashi, N. (2016). Ceramide limits phosphatidylinositol-3-kinase C2 $\beta$ -controlled cell motility in ovarian cancer: potential of ceramide as a metastasis-suppressor lipid. *Oncogene*. 2801-2812.
- [9] Lengyel, E. (2010). Ovarian cancer development and metastasis. *Am. J. Pathol.*, 177,1053–1064.
- [10] Banerjee, S. & Kaye, S. B. (2013). New strategies in the treatment of ovarian cancer: current clinical perspectives and future potential. *Clin. Cancer. Res.*, 19, 961–968.
- [11] Yamazaki, D., Kurisu, S. & Takenawa, T. (2005). Regulation of cancer cell motility through actin reorganization. *Cancer Sci.*, 96, 379–386.
- [12] Çömlekçi, E., Kutlu, H. M. & Vejselova Sezer, C. (2020). A new agent for the treatment of lung cancer: B13 loaded solid lipid nanoparticles. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 11 (4), 11 045014.
- [13] Vejselova Sezer, C. (2021). Cytotoxic impacts of escin via inducing apoptosis and morphological changes on human prostate cancer cells. *Biological Diversity and Conservation*, 14 (1), 82-87.
- [14] Kitatani, K., Idkowiak-Baldys, J. & Hannun, Y. A. (2008). The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling. *Cell Signal.*, 20, 1010–1018.
- [15] Ogretmen, B., Pettus, B. J., Rossi, M. J., Wood, R., Usta, J., Szulc, Z., Bielawska, A., Obeid, L. M. & Hannun, Y. A. (2002). Biochemical mechanisms of the generation of endogenous long chain ceramide in response to exogenous short chain ceramide in the A549 human lung adenocarcinoma cell line. Role for endogenous ceramide in mediating the action of exogenous ceramide. *J. Biol. Chem.*, 277, 12960–12969.





## Passiflora genus, its importance of pharmacy and investigation of the samples which is sold by passiflora (çarkifelek) name in the market of Turkey

Erkan Can KÖSE \*<sup>1</sup>, Ayşegül KÖROĞLU <sup>1,2</sup>  
ORCID: 0000-0003-3491-6079; 0000-0002-8450-1376

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan-Ankara, Turkey

<sup>2</sup> Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Turkey

### Abstract

Recent studies on the conventional use, chemical composition and biological effects of *Passiflora incarnata*, *P. alata*, *P. edulis* and *P. caerulea* species which have entered our country's market with fruits in recent years that are grown as climbing plants at the edges of parks and gardens and have medical value, which belong to Passifloraceae family and have economic value, have been carried out in our study. The experimental part of the study was carried out for the diagnosis of drugs known as "passionflower" or "passiflora", which are not naturally grown in our country but are consumed especially for sedative purposes and presented to the public for this purpose. In the capital city of Turkey, Ankara, 3 samples that are sold under the name of "passionflower" or "passiflora" were purchased and examined. As a result of the study, the two of them are determined as *Paliurus spina-christi* Mill. (garland thorn; Rhamnaceae) fruits. The third sample that sold as "passiflora" or "passionflower root" is found out to be the fruits of *Caiophora lateritia* Klotzsch (Loasaceae), a plant that does not grow in our country and belongs to the Middle Andes Mountains. These findings show that the "passiflora, passionflower" samples which are sold in Ankara market do not obtain the correct plant and the plant parts.

**Keywords:** Passifloraceae, *Passiflora alata*, *Passiflora edulis*, *Passiflora incarnata*, *Paliurus spina-christi*

----- \* -----

## Passiflora cinsi, eczacılıktaki önemi ve Türkiye piyasasında passiflora (çarkifelek) adı ile satılan örneklerin incelenmesi

### Özet

Çalışmada, ülkemiz piyasasına son yıllarda meyveleriyle de giren, park ve bahçe kenarlarında sarılıcı, tırmanıcı bitki olarak yetiştirilen ve tıbbi değeri olan, Passifloraceae familyasında yer alan, ekonomik değere sahip *Passiflora incarnata*, *P. alata*, *P. edulis* ve *P. caerulea* türlerinin geleneksel kullanılışı, kimyasal bileşimi ve biyolojik etkilerinin son yıllarda yapılan çalışmaları derlenmiştir. Çalışmanın deneysel kısmı, ülkemizde doğal olarak yetişmeyen ancak özellikle sakinleştirici amaçla tüketilen ve bu amaçla halka sunulan "çarkifelek" ya da "passiflora" adıyla bilinen drogların teşhisine yönelik olarak yürütülmüştür. Başkent Ankara'da "passiflora" veya "çarkifelek" adı ile satılan 3 örnek satın alınmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda ikisinin *Paliurus spina-christi* Mill. (karaçalı; Rhamnaceae) bitkisine ait meyveler olduğu saptanmıştır. "Passiflora" ya da "çarkifelek kökü" adıyla satılan üçüncü örneğin ise ülkemizde yetişmeyen, Orta And bölgesine ait bir bitki olan *Caiophora lateritia* Klotzsch (Loasaceae) meyveleri olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgular, Ankara piyasasında satılan "passiflora, çarkifelek" örneklerinin doğru bitkiden elde edilmediğini ve drog olarak satılan bitki kısımlarının doğru olmadığını göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Passifloraceae, *Passiflora alata*, *Passiflora edulis*, *Passiflora incarnata*, *Paliurus spina-christi*

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902722463301; Fax.: +902722463301; E-mail: eczacilik@afsu.edu.tr

## 1. Giriş

Passifloraceae Juss. ex DC. bilimsel sınıflandırmada Violaes ordosu, Magnoliopsida sınıfı ve Magnoliophyta alt bölümünde yer alır. Passifloraceae'nin yaklaşık 700 tür içerdiği düşünülse de bu sayı, tür varyasyonları ve taksonomik belirsizlikler nedeniyle kesin değildir [1-3].

Passifloraceae, çok değişken yaprak ve çiçeklere sahiptir. Tendriller (tırmanıcı sürgün) ile gelişen sarılgı ya da tırmanıcı otsu veya tendrilleri olmayan çalı veya ağaç formunda tropikal bitkileri kapsar. Yapraklar basit veya nadiren bileşik, alternan, stipulat, petiol salgılı (2-10) ya da salgısız, lamina basit veya 2-3-5-9 loblu, kenarı düz ya da serrat, genellikle salgı taşır. Çiçek durumu aksiller, simoz, sesil veya pedunkulat, primer eksen genellikle bir tendril taşır; sekonder eksen genellikle kısalmıştır; brakteler şeritsi, lanseolat veya yaprağımsıdır, bazen salgı taşır; pedisiller artikulattır. Çiçekler aktinomorf nadiren zigomorf, hermafrodit veya tek eşeylidir; periant kalıcı, periant parçaları serbest veya tabanda birleşiktir, genellikle kupa şeklinden tüp şekline kadar değişen hipantiyum kırmızı, pembe, leylak, mor, mavi, yeşil, beyaz, nadiren de sarı renklidir; sepallerin sayısı genellikle 5 olmakla beraber 3-6 arasında değişebilir, petallerin sayısı sepallerinkine eşittir, imbirkat, nadiren bulunmaz; korona 1 veya çok sayıda filamentli; stamenler 4 (bazen 5), androginofor üzerine bağlanmış, anterler dorsifikstir. Ovaryum (1-) 3 (-5) karpelli, üst durumlu, tek gözlü, androginofor üzerinde uzanmış sesil veya stipitattır, plasentasyon parsiyal, övül çok sayıdadır; stilus (1-) 3 (-5), serbest veya tabanda birleşmiştir; stigmalar küremsi, kapitat, papillat veya parçalı. Meyve bakka veya 3-5 valfli lokulisit kapsüldür. Tohumlar tek veya çok sayıda, yassılaştırmış şekilde, hafif eliptik, retikulat, foveolat, çukurcuklu veya enine olukludur; endosperma zengin, kotiledon yaprak şeklindedir. Çiçekler genellikle gece açar ve gece açan çiçeklerde tozlaşma yarasalar ile sağlanır [2,4].

*Passiflora* L., Passifloraceae familyasının yaklaşık 520 tür içeren en büyük cinsidir. Cins *P.* subg. *Astrophea*, *P.* subg. *Decaloba*, *P.* subg. *Passiflora*, *P.* subg. *Tetrapathea* ve *P.* subg. *Deidamioides* olmak üzere beş alt cinse sahiptir. *Passiflora* tırmanıcı, çalimsı-otsu formda, çok yıllık bitkileri içerir. Genellikle Amerika kökenlidir, ancak Asya, Afrika ve Avustralya'da da yetişmektedir. Cins ekonomik değere sahip birçok tür içerir. Cinsin değişik türleri gıda [*Passiflora edulis* Sims. (Resim 1); *P. laurifolia* L.], tedavi [*P. edulis*, *P. alata* Dryand, *P. incarnata* L. (Resim 2)] ve süs [*P. caerulea* L.] amacıyla kullanılmaktadır. *P. alata* ve *P. incarnata* (Resim 2) Homeopatik Farmakopeler (DHA 1978, HPUS 1992) de dâhil olmak üzere birçok ülke Farmakopesinde (EP 2013, TF 2017) ve değişik monografılarda (EMA 2013, ESCOP 2003, FFD 2017) özellikle, sedatif ve anksiyolitik etkisi nedeniyle insomnia ve anksiyete gibi santral sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı için kayıtlıdır [1-3, 5-16]. Cinsin ülkemizde doğal olarak yetişen türü olmamakla beraber *P. caerulea* (Resim 3, 4), güzel ve gösterişli çiçekleri nedeniyle özellikle peyzaj düzenlemelerinde süs amacıyla kullanılmaktadır.



Resim 1. *Passiflora edulis* meyve (Foto: Ayşegül Köroğlu)

Bu çalışmada, cinsin en çok bilinen üyelerinin kullanılışı ve biyolojik etkilerine ait son yıllarda yapılmış çalışmalar derlenmiştir. Ayrıca ülkemizde doğal olarak yetişmeyen ancak Türk Farmakopesi 2017'de [7] kayıtlı olan ve piyasada "çarkifelek veya passiflora" adı ile satışa sunulan örnekler piyasadaki satın alınmış ve bu örnekler elde edildikleri bitki kaynağı, drog özelliği, saflık kontrolü açısından incelenmiştir. Ayrıca piyasadaki temin edilen bu örnekler halk sağlığında tedavi edici özellikleri açısından değerlendirilmiştir.



Resim 2. *Passiflora incarnata*, beyaz çiçekli (Foto: Ysabel Campos Santaella, Venezuela)



Resim 3. *Passiflora caerulea* (Foto: Ayşegül Köroğlu, Samsun)



Resim 4. *Passiflora caerulea* (Foto: Ayşegül Köroğlu, Samsun)

### 1.1. Genel Bilgiler

#### 1.1.1. Geleneksel Kullanım

*Passiflora* L. cinsinin bazı türleri dünyanın çeşitli toplumlarında geleneksel olarak hipnotik-sedatif amaçla kullanılmaktadır. Avrupa'da insomnia (uykuya dalamama ya da gece boyunca sürekli uyuyamama) ve anksiyetenin (nedeni belli olmayan tedirginlik, kaygı, korku, gerilim, sıkıntı hali) tedavisi için kullanılır. Kuzey Amerika'da sedatif olarak geleneksel kullanıma sahiptir. Ayrıca Brezilya'da analjezik, antispazmodik, antiastmatik, sedatif amaçlarla; Irak'ta narkotik ve sedatif; Türkiye'de nevralsi, nöroz (asteni, saplantı ve histeri gibi bir grup uzun dönemli ruhsal hastalıklara verilen genel bir terimdir), insomnia, epilepsi, dismenore gibi rahatsızlıkların tedavisinde; Polonya'da histeri ve nevrasteninin (sinir sistemi fonksiyonunda olan aşırı çalışma nedeniyle oluşan zayıflık ya da bitkinlik durumu) tedavisinde; Amerika'da diyare, dismenore, nevralsi, yanıklarda, hemoroid ve insomnianın tedavisinde kullanılır. Ayrıca Hindistan'da opiyat bağımlı kişilere tedavi amacıyla uygulanır [5,6,11,14].

*Passiflora alata*, Brezilya'da ekonomik değere sahiptir ve Brezilya Farmakopesi'nin 5. yayınında tanımlanan offisinal *Passiflora* türüdür. Bitki sedatif ve anksiyolitik amaçlar için kullanılan birçok bitkisel ilacın bileşiminde yer almaktadır. Bu etkilerin kullanılan ekstrenin kimyasal bileşimine bağlı olduğu belirtilmiştir [14].

*Passiflora incarnata*'nın toprak üstü kısımları sedatif, anksiyolitik, antispazmodik, analjezik, antikonvülzan, antidiyabetik olarak ve ayrıca boğmacada, bronşitte ve astımda geleneksel olarak kullanılmaktadır. Geleneksel Ayurveda ve Siddha Tıp Sistemlerinde antidiyabetik etkisi nedeniyle yer almaktadır. Özellikle *P. alata* ve *P. incarnata* türleri sedatif ve anksiyolitik etkisi nedeniyle insomnia ve anksiyete gibi santral sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı için pek çok farmakope ve monografa kayıtlıdır [5-13]. Cinsin ülkemizde doğal olarak yetişen türü olmakla beraber güzel ve gösterişli çiçekleri nedeniyle özellikle peyzaj düzenlemelerinde *P. caerulea* (Resim 3, 4) süs amacıyla çit bitkisi olarak yetiştirilmektedir.

#### 1.1.2. Kimyasal Bileşim

*Passiflora alata* yapraklarından flavonoit ve saponin yapısında bileşikler izole edilmiş ve tanımlanmıştır [15,16]. *Passiflora edulis*'te genel olarak sikloartan yapısında triterpenik bileşikler (siklopassifloik asit B ve E, siklopassiflorazit 2, 6, 9 ve 11, siklopassiflorazit 12 ve 13) bulunmaktadır [17]. Benzer *Passiflora edulis* popülasyonlarına ait örneklerin YPSK ile elde edilen kromatogramlarının da benzer olduğu tespit edilmiştir. Ancak farklı popülasyonlara ait olan örneklerin YPSK verilerinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. *P. edulis* var. *flavicarpa* yapraklarından izole edilen altı ana flavonoit (lusenin-2, visenin-2, izoorientin, izoviteksin, luteolin-6-C-sinovozit, ve luteolin-6-C-fukozit), *P. edulis* var. *edulis*'te bulunamamıştır. Sonuç olarak, *P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. edulis* var. *edulis*'ten tamamen farklı kimyasal içeriğe sahip bir varyete olarak değerlendirilmiştir. Bu varyeteler üzerinde farmakolojik çalışmalar yapılırken dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Bu bulgulara göre *P. edulis* var. *flavicarpa*'nın *Passiflora* ekstresi kaynağı olarak kullanılmasının uygun olduğu tespit edilmiştir [18].

*Passiflora incarnata*'nın toprak üstü kısmının parçalanmış veya kesilmiş, kurutulmuş halini içeren drog, Avrupa Farmakopesi ve Türk Farmakopesi 2017'de Passion Flower (*Passiflorae herba*, çarkıfelek) adı altında kayıtlıdır. Drog, çiçek ve meyveleri de içerebilir. En az %1.5 oranında viteksin üzerinden hesaplanmış flavonoit içermesi gerekir [7,8]. *Passiflora incarnata* yaprak ekstresinin flavonoid (apigenin, luteolin, kersetin, kemferol, C-glikozil flavonoidler, viteksin, izoviteksin, orientin, izoorientin, şaftozit, izoşaftozit ve sivertisin);  $\beta$ -karbolin alkaloidleri (harman, harmol, harmin, harmalol, harmalin); terpenik bileşikler ( $\alpha$ -bergamatol,  $\beta$ -iyonen, ojenol, izoojenol, trans-anetol, karvon, linalol, benzil alkol ve heksanol içeren uçucu yağlar); siyanojenik glikozit (ginokardin) ve çeşitli etken madde gruplarına (maltol türevi  $\gamma$ -benzopren; rafinoz, sukroz, d-fruktoz ve d-glukoz gibi karbonhidratlar) sahip olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir [5,9-11].

### 1.1.3. Biyolojik Etki

*Passiflora alata*'nın toprak üstü kısımlarının % 60 oranında etanol-su ekstresinin (liyofilize nanokapsülleri) preparatı hazırlanmıştır. Viteksin olarak belirlenen total flavonoid içeriği % 0.67 olarak hesaplanmıştır. Test çözeltileri farelere oral yoldan uygulanmıştır. HCl/etanol ile oluşturulmuş akut gastrik ülser modelindeki *P. alata* nanokapsüllerinin 50 mg/kg dozda önemli ölçüde gastroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [19].

*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* yapraklarından elde edilen sulu liyofilize ekstrenin; farelerde karragenan, bradikinin, histamin veya Substance P ile oluşturulan akciğer zarı iltihabında lökositlerin göçü, miyeloperksidaz (MPO), nitrik oksit (NO) konsantrasyonu ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1  $\beta$  düzeyleri üzerine antienflamatuvar etki mekanizması çalışılmıştır. *P. edulis* ekstresinin, miyeloperksidaz, proenflamasyon sitokinlerinin ve nitrik oksit düzeylerini inhibe etmede deksametazondan (0.5 mg/kg, i.p.) daha etkili olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre; enflamasyonun oluşmasından yarım saat önce verilen *P. edulis* ekstresi (250 mg/kg), karragenan ile oluşturulmuş akciğer zarı iltihabı fare modelinde, nötrofilleri ve lökositleri inhibe eden en iyi doz olarak belirlenmiştir [18]. *P. edulis*'in antidepresan etki gösterdiği kanıtlanmıştır. *P. edulis*'in yaprak ve dallarının alkollü ekstresi 7 gün boyunca 0.4 mL/20 g dozda intragastral yoldan farelere uygulanmıştır. *P. edulis*'in yaprak ve dallarının fitokimyasal içeriği belirlenmiş ve monomerik maddelerin biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır [17].

*Passiflora incarnata* metanollü ekstresinin, diyabetik farelerde önemli derecede antihiperglisemik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ekstre ayrıca oral yoldan kan glukoz seviyesi ve vücut ağırlığını düşürmüş, üre glukoz ve lipid yapısı gibi parametrelerde de iyileşme sağlamıştır [5]. *P. incarnata*'da bulunan harman alkaloidleri geri dönüşlü monoaminoksidaz (MAO)-A inhibitörüdür ve antidepresan etki göstermektedir. *P. incarnata*'nın bileşimindeki bu çeşitli bioaktif maddelerin varlığı, bu bitkinin epilepsinin sonucu olarak ortaya çıkan post-iktal depresyonu iyileştirerek koruma sağlayabileceği hipotezine götürmüştür. Yapılan deneyler sonucunda, ekstre ile tedavi hareketsizlik zamanını ve felç şiddetini önemli ölçüde düşürmüş, ayrıca beyindeki serotonin ve noradrenalin seviyesini korumuştur. *P. incarnata*'nın sulu alkollü ekstresinin pentilentetrazol ile oluşturulmuş felci baskıladığı ve felçle bağlantılı post-iktal depresyonu iyileştirdiği gösterilmiştir [21].

Avrupa ve Türk Farmakopelerinde kayıtlı olan Çarkıfelek, Passiflorae herba *Passiflora incarnata* bitkisinden elde edilmektedir [7,8] ve geleneksel kullanıma sahiptir. Biyolojik etkileri in vitro, in vivo ve klinik çalışmalarla da tespit edilmiştir [5,11].

## 2. Materyal ve yöntem

Materyal temini için Ankara'da 7 farklı drog satıcısından "çarkıfelek" ya da "passiflora" adı ile örnek aranmış, ancak bu satış yerlerinden üçünden "çarkıfelek" ya da "passiflora" adı ile satışı yapılan 3 örnek satın alınabilmiştir (Tablo 1). Standart olarak *Passiflora incarnata*'nın kültür (Antalya) formundan elde edilen meyve, morfolojik özelliklerinin tanımlanması için kullanılmıştır (Şekil 9). Piyasadan satın alınan bu üç örnek, Türk (2017) [7] ve Avrupa Farmakopesi'nde [8] tanımlanan drog özelliğine göre morfolojik olarak incelenmiştir.

Tablo 1. Çalışma sırasında kullanılan çarkıfelek (passiflora) örneklerinin temin edildiği yerler ve satışa sunulma şekilleri

Materyal	Örneklerin alındığı yerler	Piyasada bulunuş şekli	Resim no
Örnek 1	Yenimahalle	Açıkta	5
Örnek 2	Kızılay	Paket halinde	6
Örnek 3	Kızılay	Paket halinde	7

Çalışmada "çarkıfelek" ya da "passiflora" adı ile satın alınan örneklerin hepsi meyve kısmı olduğu için standart numune olarak *Passiflora incarnata*'nın meyvesi (özel üretim, Antalya) karşılaştırma için kullanılmıştır. Piyasadan satın alınan örneklerin teşhisi için Türkiye Florası [22] ve pl@ntNet [23] uygulamasından yararlanılmıştır.

## 3. Bulgular

Ankara piyasasında 7 farklı drog satıcısına gidilmiş, ancak "çarkıfelek" ya da "passiflora" adıyla piyasada var olan 3 örnek satın alınabilmiştir.





Resim 5. Örnek 1. Piyasadan (Yenimahalle) satın alınan “çarkıfelek kökü” olarak açıkta satılan numune A. Nylon torba içinde, B. *Caiophora lateritia* Klotzsch (Loasaceae) meyveleri olarak tanımlanmıştır.



Resim 6. Örnek 2. Piyasadan (Kızılay) çarkıfelek otu (passiflora) adı ile satın alınan paketli numune.



Resim 8. *Paliurus spina-christi* Miller (karaçalı; Rhamnaceae) meyveleri



Resim 7. Örnek 3. Piyasadan (Kızılay) çarkıfelek otu adı ile satın alınan paketli numune.



Resim 9. *Passiflora incarnata* meyvesi (özel üretim, Antalya).

Resimlerde de görüldüğü gibi (Şekil 5-8) piyasadan temin edilen hiçbir örnek *Passiflora incarnata* bitkisine ait drog örnekleri değildir. Bu örneklerden Yenimahalle'den temin edilen örnek (Örnek 1, Resim 5A, B) açıkta paketlenmemiş olarak “çarkıfelek kökü” adı ile satılmaktadır. Örnek satın alma sırasında naylon bir torbaya koyulup halka sunulmaktadır (Resim 5A). Kök olarak satılan bitki kısmının ülkemizde yetişmeyen bir bitkiye ait meyve kısımları olduğu belirlenmiştir. Meyvelerin burulmuş halde olması “çarkıfelek” uzun ve koyu renkli olması ise “kök” olarak yorumlanması nedeniyle bu isimle satıldığını düşündürmüştür. “Çarkıfelek kökü” olarak satılan bu drog ülkemize ait bir bitkiden elde edilmemektedir. Droğun elde edildiği bitki Arjantin, Brezilya ve Paraguay gibi orta And Dağları bölgesine ait *Caiophora lateritia* bitkisidir ve satın alınan örnekler bu bitkinin meyveleri olarak tespit edilmiştir [23, 24]. Örnek 2 ve 3 ise *Paliurus spina-christi* (karaçalı) meyveleridir [22] ve paketlenmiş halde “çarkıfelek otu” adıyla piyasada bulunmakta, halka sakinleştirici olarak tedavi edici amaçla satılmaktadır.

#### 4. Sonuçlar ve tartışma

Çalışmamızda *Passiflora* cinsine ait (Passifloraceae) tıbbi özellikleri nedeniyle hem geleneksel hem de farmakolojik kullanımı olan üç tür (*Passiflora alata*, *P. edulis* ve *P. incarnata*), son yıllarda yapılan çalışmalar ışığında incelenmiş ve bulgular derlenmiştir. Ayrıca başkent Ankara piyasasında tedavi amacıyla satışı yapılan örnekler, Avrupa Farmakopesi ve Türk Farmakopesi 2017’de Passion Flower (*Passiflorae herba*, çarkıfelek) adı altında kayıtlı olan drog tanımı ile morfolojik özellikleri açısından karşılaştırılmak üzere satın alınmıştır. Her iki farmakopeye göre drog, *P. incarnata*’nın toprak üstü kısmının (çiçek ve meyveleri de içerebilir) parçalanmış veya kesilmiş, kurutulmuş halini tanımlar [7,8]. Avrupa İlaç Kurumu (EMA, European Medicines Agency) monograflarında *P. incarnata* herbası, oral kullanım için tıbbi çay veya katı (tablet, kapsül) ya da sıvı dozaj [etanollü ya da etanol:gliserin:su (54:5:60) ekstresi] formunda ekstreleri kayıtlıdır. Ayrıca tek başına ya da kombine preparatları halinde orta şiddetli zihinsel stres ya da uykusuzluk halinde kullanılması önerilmektedir. Tıbbi çay halinde 2 g’lık poşetlerde (Resim 10) hazırlanıp HPMC (Committee on Herbal Medicinal Products) monograflarına göre kullanılması önerilmektedir [9].



Resim 10. Almanya’da eczanelerde endikasyon belirtilerek satılan *Passiflora incarnata* tıbbi çay paketi

Çalışmamızın deneysel olarak yürütülen kısmında, ülkemiz piyasasında özellikle Başkent Ankara’da doğrudan tedavi amacıyla kullanılmak üzere satışa sunulmuş olan “passiflora ya da çarkıfelek” adıyla örnekler temin edilmiştir. Örnek temini sırasında tedavi amacıyla piyasada bulunan örneklerin açıkta ya da paketlenmiş halde satışa sunulduğu tespit edilmiştir. Satın alınan örnekler üzerinde yürüttüğümüz morfolojik çalışmalar sonucunda, olması gerekenden tamamen farklı bitkilerden elde edilen drogların Ankara piyasasında tedavi edici değeri nedeniyle satıldığı belirlenmiştir. Ayrıca tıbbi amaçla kullanılan bitki kısmı olarak kök (Yenimahalle - aslında bir meyve; açıkta satılıyor) (Resim 5) ve meyvelerin [Kızılay - *Paliurus spina-christi* meyveleri [18]; paketlenmiş halde (Resim 6, 7)] önerildiği ve satıldığı tespit edilmiştir. Nisan 2016’ya kadar piyasada çeşitli ekstreleri halinde de ulaşılabilen passiflora preparatları, bu tarihten sonra Sağlık Bakanlığı tarafından eczaneler dışında satışının yapılmasına izin vermediği için temin edilememiştir.

Bu örneklerden Yenimahalle’den temin edilen örnek “çarkıfelek kökü” adıyla satılmakta ve açıkta, paketlenmemiş olarak halka sunulmaktadır (Şekil 5. A-B). Kök olarak satılan bitki kısmının ülkemizde yetişmeyen bir bitkiye ait meyve kısımları olduğu belirlenmiştir. Meyvelerin burulmuş halde olması “kök” olarak yorumlanmasına neden olduğu için bu isimle satıldığını düşündürmüştür. “Çarkıfelek kökü” olarak satılan bu drog ülkemizde yetişmeyen *Caiophora lateritia* bitkisinin meyveleridir [23, 24]. Bu türün tıbbi amaçla kullanıldığına dair bilgiye ulaşamadık.

Ankara piyasasından temin ettiğimiz her üç örnek de *Passiflora* cinsine ait değildir. 3 nolu örnek (Resim 7) paketi üzerinde *Phila dendron* Latince, karaçalı otu ve çarkıfelek Türkçe isimleri yer almaktadır. *Phila dendron* yapılan inceleme sonucunda bilimsel bitki ismi olarak bulunamamıştır [25]. Karaçalı ismi ülkemizde genellikle *Paliurus spina-*



*christi* bitkisine verilen yerel bir isimdir. Bu meyveler aslında Rhamnaceae familyasında bir bitki olan *P. spinachristi*'ye aittir [22].

Ülkemizde süs amacıyla bahçe kenarlarında yetiştirilen cinsin tek temsilcisi *Passiflora caerulea*'dır. Bunun dışında *P. incarnata* türünün de Antalya ve Muğla'da tropikal meyve yetiştiriciliği yapan üreticiler tarafından küçük bir alanda kültürünün yapıldığına dair bilgimiz vardır (Şekil 9).

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular, tedavi amacıyla satılan bitki kaynaklı drogların, bilimsel botanik teşhislerinin doğru yapılması gerektiğini ve ancak doğru bilimsel isme sahip bitkilerden elde edilen doğru bitki kısımlarının hastalıklardan korunmak, sağlığı sürdürmek veya yeniden kazanmak amacıyla kullanılmalarının önemini ve gerekliliğini bir kez daha göstermiştir. Doğada yetişen türlerin toplanıp kurutulması durumunda doğru bitkinin toplanıp toplanmadığı önemli bir sorundur. Drog elde edilmesinde kullanılacak tıbbi bitkilerin ve bitki kısımlarının öncelikle botanik standardizasyonunun yapılması gereklidir. Çalışma, ülkemiz piyasasında (Başkent Ankara) "çarkıfelek, passiflora" adı ile satışı sunulmuş olan örneklerin, Türk (2017) ve Avrupa Farmakopesi'nde [7,8] verilen bitki ve drog özelliklerine uymadığını ve sonuçta da tıbbi kullanımının halk sağlığı açısından güvenilir olmayacağını kanıtlamıştır.

Çalışmamız piyasada yerel isimle ve tıbbi amaçla kullanılması için satışı sunulan bitki kısımlarının doğru bitkiden elde edilmediği gibi doğru bitki kısımları da olmadığını göstermiştir. Doğru bitkiden elde edilen ve doğru bitki kısmı kullanılan drog, tedavi değerine sahiptir ve insan sağlığında güvenle kullanılabilir. Piyasamızdan satın aldığımız bu örneklerin hiçbir tıbbi değeri yoktur ve insan sağlığında kullanılması satışı sunulduğu amaçlar için uygun değildir. Avrupa ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi amaçla kullanılacak olan bitkisel drogların standardizasyonunun sağlanması, menşei belli tohumlardan İyi Tarım Uygulamaları ile elde edilmesi ve bundan sonra piyasaya sunulması gerekmektedir. Bu konuda yerli üreticilerin bilgilendirilmesi ve teşvik edilmesi ülkemizin standardizasyonu sağlanmış tıbbi bitkileri ve bu bitkilerden elde edilecek drogları iç ve dış piyasaya sunması açısından önem taşımaktadır.

## Kaynaklar

- [1] Cerqueira-Silva, C.B.M., Jesus, O.N., Santos, E.S.L., Corrêa, R.X., Souza, A.P. (2014). Genetic Breeding and Diversity of the Genus *Passiflora*: Progress and Perspectives in Molecular and Genetic Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(8), 14122-14152. <https://doi.org/10.3390/ijms150814122>
- [2] Cerqueira-Silva, C.B.M., Faleiro, F.G., Jesus O.N., Santos, E.S.L., Souza, A.P. (2016). The genetic diversity, conservation and use of passion fruit (*Passiflora* spp.). Chapter 5, Series Book: Sustainable Developments and Biotechnology Individual Book: Erosion and Biodiversity. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-25954-3\\_5](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-25954-3_5)
- [3] Mezzonato-Pires, A. C., Milward-de-Azevedo, M.A., Mendonça, C.B.F., Gonçalves-Esteves, V. (2019). Taxonomic notes on species of *Passiflora* subgenus *Astrophea* (Passifloraceae ss). *Acta Botanica Brasílica*, 33(1), 149-152. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0405>
- [4] Nunes, T. (2009). Neotropical Passifloraceae. In: Milliken, W., Klitgård, B. & Baracat, A. (2009 onwards), Neotropikey - Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics. <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Passifloraceae.htm>
- [5] Gupta, R.K., Kumar, D., Chaudhary, A.K., Maithani, M., Singh, R. (2012). Antidiabetic activity of *Passiflora incarnata* Linn. in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 801-806. DOI: 10.1016/j.jep.2011.12.021
- [6] Miroddi, M., Kalapai, G., Navarra, M., Minciullo, P.L., Gangemi, S. (2013). *Passiflora incarnata* L.: Ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 791-804. DOI:10.1016/j.jep.2013.09.047
- [7] TF (2017). Türk Farmakopesi 2017. T.C. Sağlık bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. Genel Monograflar, Cilt III A-G, s. 1885. Artı 6 Reklam Matbaa Ltd. Şti. Ankara.
- [8] European Pharmacopoeia, Council of Europe (2013). 10th ed., Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare.
- [9] EMA (European Medicines Agency) EMA/ HMPC/ 669738/ 2013, Assesment report on *Passiflora incarnata* L., herba. [www.ema.europa.eu/.../en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_HMPC\\_assessment\\_report/2014/06/WC500168964.pdf](http://www.ema.europa.eu/.../en_GB/document_library/Herbal_HMPC_assessment_report/2014/06/WC500168964.pdf) - 187k - 2014 - 06 - 18
- [10] ESCOP (2003). ESCOP Monographs. The scientific Foundation for Herbal Medicinal Prducts. Second Ed. Cmpletely revised and expanded. Thieme.
- [11] Koca Çalışkan U. (2017). FFD Monografları, Bitkiler ve Etkileri. Eds. Demirezer, Ö., Ersöz, T., Saraçoğlu, İ., Şener, B., Köroğlu, A., Yalçın, F. N., Akademisyen Kitabevi, Ankara.
- [12] DHA (1978). Deutsches Homopathisches Arzneibuch, 1st ed. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Germany.

- [13] HPUS (1992). The Homeopathic Pharmacopoeia of the United States. Pharmacopoeia Convention of the American Institute of Homeopathy, Arlington, USA.
- [14] Braga, A., Stein, A.C., Stolz, A.D., Dallegrave, E., Buffon, A., Rego, J.,... Rates, S. M. K. (2013). Repeated administration of an aqueous spray-dried extract of the leaves of *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae) inhibits body weight gain without altering mice behavior. *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 59-66.
- [15] Ulubelen, A., Oksuz S., Mabry T. J., Dellamonica G., Chopin J. (1982). C-Glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia mannii*. *J Nat Prod* 45: 783-783.
- [16] Doyama, J.T., Rodriguesa, H.G., Novellia, E.L.B., Ceredab E., Vilegas W. (2005). Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 371-374.
- [17] Wang, C., Xu, F. Q., Shang, J. H., Xiao, H., Fan, W. W., Dong, F. W., Zhou, J. (2013). Cycloartane triterpenoid saponins from water soluble of *Passiflora edulis* Sims. and their antidepressant-like effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 812-817.
- [18] Li, H., Zhou, P., Yang, Q., Shen, Y., Deng, J., Li, L., Zhao, D. (2011). Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* 'edulis' and *Passiflora edulis* 'flavicarpa'. *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 1085-1090.
- [19] Wasicky A., Hernandez L. S., Neto A. V., Moreno P. R. H., Bacchi E.F., Kato E. T. M., Yoshida M. (2015). Evaluation of gastroprotective activity of *Passiflora alata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 407-412.
- [20] Montanher, A. B., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P., Fröde, T.S. (2007). Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 281-288.
- [21] Singh, B., Singh, D., Goel, D.K. (2012). Dual protective effect of *Passiflora incarnata* in epilepsy and associated post-ictal depression. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 273-279.
- [22] Davis, P.H. (1967). "*Paliurus*" In *Flora of Turkey and The Aegean Islands*. Vol, 2 eds. Davis, P.H., Cullen, J., Coode, M.J.E. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- [23] PlantNet. (2020). Pl@ntNet app. <http://plantnet.org>
- [24] Slanis, A., Perea, M.C., Grau, A. (2016). Taxonomic revision of the genus *Caiophora* (Loasaceae) from Argentina: A new species *C. sleumerii*. *DARWINIANA, nueva serie*, 4(2). 138-191.
- [25] theplantlist.org (2021). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Phila+dendron>.



## The genetic resources of *Taxus baccata* L. in Mustafakemalpaşa and Karacabey/Turkey

Seren DİKEŞ<sup>1</sup>, Mustafa YILMAZ<sup>2</sup>, Mehmet KALKAN<sup>\*2</sup>  
ORCID: 0000-0002-8687-7975; 0000-0002-8250-1882; 0000-0002-0801-4955

<sup>1</sup> Kirsealan Forest Enterprise Chief, Kalkım Forest Enterprise Directorate, 17560, Çanakkale, Turkey

<sup>2</sup> Bursa Technical University, Faculty of Forestry, Department of Forest Engineering, 16310, Bursa, Turkey

### Abstract

The population of *Taxus baccata* L. (Yew Tree), which is a valuable tree in our country, is gradually decreasing and it is under protection in places. Generally, it is scattered in the shady areas and northern aspects of forest landscapes. *T. baccata*, a natural and medicinal plant for the flora of Bursa, has small populations in riverbeds and hillsides in Mustafakemalpaşa and Karacabey. In this study main objectives were the finding of natural distribution areas and the individuals at different altitudes in the districts surveyed, habitat characteristics of individuals, the collection of ethnobotanical information about the species from the local people. In the field trips, major characteristics of each tree and its site were recorded including diameter, height, land use, the views of the individuals, aspects, altitudes, and coordinates. After the result of field trips, 172 trees were recorded in Mustafakemalpaşa (133 trees) and Karacabey (39 trees). The largest part of the trees was forest land (%95,4) and north aspects (%54,7). The lowest and the highest elevation of the species in the region were 192 m and 1034 m, respectively. The silvicultural tending treatments should be applied for the conservation of yew tree populations and individuals. There are difficulties in the regeneration and reproduction of yew trees due to limited germination and competing vegetation in the site. On the other hand, yew trees growing in sensitive sites are expected to be most affected by climate change. Therefore, there is a need for special public awareness and conservation studies for the species.

**Key words:** Yew Tree, *Taxus baccata*, Karacabey, Mustafakemalpaşa.

----- \* -----

### Mustafakemalpaşa ve Karacabey'deki *Taxus baccata* L. Gen Kaynakları

### Özet

*Taxus baccata* L. (Porsuk ağacı), ülkemizde popülasyonu azalmakta olan ve yer yer korunmaya alınmış değerli bir ağaçtır. Genel olarak gölgeli ve korunaklı kuzey bakılarda serpili olarak görülür. Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerinde yamaç araziler ve dere içlerinde küçük popülasyonlara ve bireylere sahip olan *T. baccata* Bursa florası için önemli doğal ve tıbbi bitkilerdendir. Bu çalışmada araştırma yapılan ilçelerdeki porsuk ağacının doğal yayılış alanları, bulunan bireylerin boyutları, türün yöredeki yetişme ortamı özellikleri, yerel insanlar tarafından kullanımı ile ilgili etnobotanik bilgilerin derlenmesi amaçlanmıştır. Arazi çalışmalarında porsuk ağaçlarının buldukları yerin bakışı, rakımı, koordinatları, çap-boy gelişimleri, arazinin mülkiyeti ve bireylerin görüntüleri kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda Mustafakemalpaşa (133 adet) ve Karacabey (39 adet) ilçelerinde 172 adet porsuk ağacı tespit edilmiştir. Bireylerin en fazla kuzey (%54,7) bakıda yer aldığı ve (%95,4)' ünün orman arazisinde olduğu belirlenmiştir. Tür en düşük 192 m ve en yüksek 1034 m yükseltide görülmektedir. Yayılış gösterdiği yerlerde, korunmasına yönelik silvikültürel bakım tedbirleri uygulanmalıdır. Az sayıda çimlenme ve sahadaki diri örtü dolayısıyla porsuk ağacının gençleşmesi ve çoğalmasında güçlükler bulunmaktadır. Diğer yandan hassas yetişme ortamlarında bulunan porsuk ağacı iklim değişikliğinden en fazla etkilenmesi beklenen türlerdendir. Bundan dolayı tür ile ilgili özel farkındalık ve koruma çalışmalarına ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *Taxus baccata*, Porsuk ağacı, Mustafakemalpaşa, Karacabey

## 1. Giriş

Porsukgiller (*Taxaceae*) familyasından *Taxus* türleri yavaş büyüyen, herdem yeşil ve yeryüzünde seyrek yayılış gösteren ağaçlardır. *Taxus* cinsi kuzey yarımkürede yayılış gösteren 9 tür ile temsil edilir [24]. Tamamı zehirli olan bu türlerden ülkemizde yalnızca *Taxus baccata* L. (porsuk ağacı) doğal olarak yetişir [11]. *T. baccata* özel ekolojik istekleri ve çevre faktörlerine karşı duyarlılığı ile ülkemizdeki önemli odunsu türlerden biridir. İki evcikli nadiren tek evcikli ağaç veya ağaççıklardır. Tohum ve yapraklar taxin alkaloidi bakımından zengindir [16]. Son dönemlerde kabuk, genç sürgünler ve yapraklarında bulunan taxin alkaloidinin kanser hastalığına karşı kullanılması dolayısıyla [6, 7] tüm dünyanın dikkatini çekmektedir.

*T. baccata* ormanlarda diğer yaygın ağaçların arasında serpili olarak bulunan ve ziynet ağacı” olarak tanımlanan türlerdendir [19]. Türün toprak ve bağıl nem isteği oldukça yüksektir ve yaşam alanı olarak genellikle korunaklı vadileri tercih etmektedir. Stres şartlarına, kuraklık ve dona karşı duyarlı bir türdür [4, 10]. Yaygın olarak bulunduğu Avrupa’da kuzeydeki dağılımı düşük sıcaklıklar ve su baskımları ile, güneyde ise yüksek sıcaklıklar ve kuraklık ile sınırlıdır. Taşkın yataklarından kaçınmaktadır. En iyi gelişimini orta dereceli sıcaklıklarda ve okyanusal iklimlerde göstermekte olup, genellikle kuzey yamaçlarda, orta ve yüksek rakımlarda bulunur [15]. Türkiye’de özellikle Karadeniz ormanlarında daha çok gölgeli ve kuytu kesimlerde serpili ya da küçük gruplar halinde bulunurlar. Ayancık, Bolu, Karabük ve Yenice ormanlarında en iyi gelişimini yapmaktadır [26]. Yer yer kalın çaplı ve yaşlı fertleri bulunmakta olup çok uzun ömürlü ağaçlardır [1].

Son dönemlerdeki iklim değişikliği sorunları, birçok türün gen kaynaklarını tehdit etmekte ve yaşam alanlarını daraltmaktadır. Orman gen kaynaklarının oluşumları, on binlerce yılı aşan sürece dayanmakta olup, kısa vadede yenilenemeyen doğal kaynaklar olarak kabul edilmektedir [8, 33]. Bitkilerin yaşamları genetik yapıları ve ekolojik faktörler tarafından yönlendirilir. Bitki türleri, ekolojik istekleri ile habitat şartlarının belli oranda örtüşmesi durumunda doğada varlığını devam ettirmektedir [30]. Ülkemizdeki orman gen kaynakları, biyotik ve abiyotik baskıların etkisi ile daralan yetişme ortamlarında günümüze kadar ulaşmışlardır [28, 31]. Genel olarak gen kaynaklarının korunmasında mümkünse doğal ortamında koruma esastır [9, 29]. Doğal ortamı dışında koruma daha çok tamamlayıcı bir önlemdir [9]. Dağınık konumlarda saklı kalan *T. baccata* gibi bazı gen kaynakları için özel araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

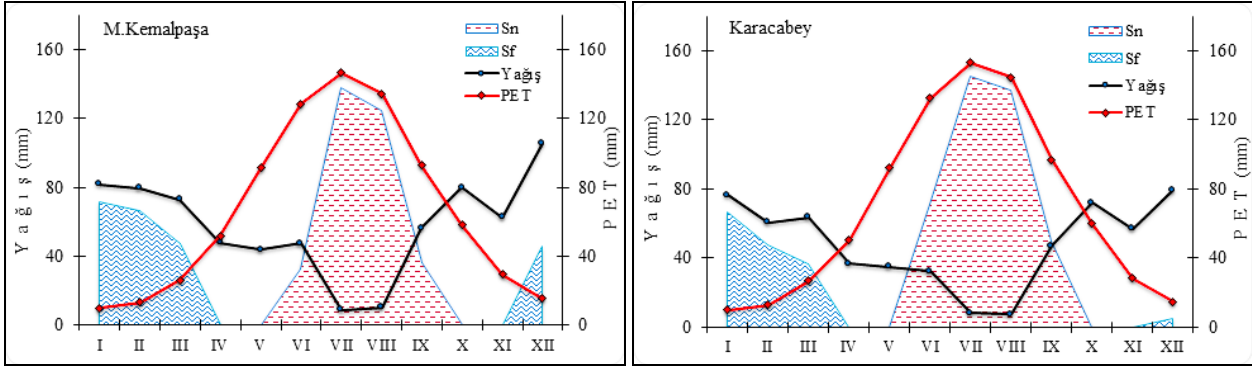
Bu araştırmada, özel habitatlara ve zengin biyolojik çeşitliliğe sahip olan Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerindeki porsuk ağacı doğal yayılış alanlarının belirlenmesi, değişik rakımlardaki bireylerinin tespiti ve yörede insanlar tarafından kullanımı ile ilgili etnobotanik bilgilerin derlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda bu değerli türün gen kaynaklarının korunmasına yönelik önerilerde bulunulmuştur.

## 2. Materyal ve yöntem

**Coğrafi Konum:** Bu çalışma Bursa iline bağlı Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçe sınırları içerisinde yürütülmüştür. Mustafakemalpaşa’nın büyük bir kısmı Marmara Bölgesi’nde, küçük bir bölümü ise Ege Bölgesi’nde yer almaktadır. Karacabey, Marmara Bölgesi’nin Güney Marmara bölümünde, Bursa iline bağlı bir ilçe olup, kuzeyden Marmara Denizi ile çevrilidir.

**İklim Özellikleri:** Bölgede Akdeniz ve Karadeniz ikliminin geçiş tipi olan sıcak ve ılıman bir iklim hâkimdir. Karacabey, nemli hava kütlelerinin yağışa dönüşmesine imkân sağlayacak yükseltilere sahip olmadığından Güney Marmara’nın iklimini tam olarak yansıtmaz. Mustafakemalpaşa Karacabey’e göre daha fazla yağış almaktadır. Kış aylarında ise Mustafakemalpaşa ormanları genel olarak kar yağışı alır, Karacabey’e ise ağırlıklı olarak yağmur düşmektedir.

Thorntwaite yöntemine göre Karacabey ilçesinin iklim tipi *C1 B'2 s b'3* sembolleriyle ifade edilen *Yarı nemli-Yarı kurak, Orta sıcaklıkta (Mezotermal), Su fazlası kış mevsiminde ve orta derecede olan, Okyanus iklimine yakın* iklim tipine sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı yöntemle göre Mustafakemalpaşa ilçesinin iklim tipi *C2 B'2 s2 b'4* sembolleriyle ifade edilen *Yarı Nemli, Orta sıcaklıkta (Mezotermal), Su noksanı yaz mevsiminde ve çok kuvvetli olan, Okyanus iklimine yakın iklim* tipine sahip olduğu belirlenmiştir. Meteoroloji Genel Müdürlüğü’nden alınan 56 yıllık yağış ve sıcaklık değerlerine göre Thorntwaite metoduyla su bilançosu bulunmuş ve bulunan değerlerle su bilançosu diyagramı oluşturulmuştur (Şekil 1). Mustafakemalpaşa’da 697,1 mm olan yıllık toplam yağışın %51,2’si (357,1 mm) vejetasyon döneminde gerçekleşmektedir. Su noksanı mayıs ayı ortalarında başlamakta ve ekim ayı başına kadar sürmektedir. Karacabey’de 574,5 mm olan yıllık toplam yağışın %51,3’ü (294,8 mm) vejetasyon döneminde gerçekleşmekte olup, su noksanı mayıs ayı ortalarında başlamakta ve ekim ayı başına kadar sürmektedir.



Şekil 1. Karacabey ve Mustafakemalpaşa ilçelerinin Thornthwaite metoduna göre su bilançosu diyagramı (MGM, 2021) (Sn: Su noksanı, Sf: Su fazlası, PET: Potansiyel Evapotransprasyon)

**Bitki Örtüsü:** Ormanlar Mustafakemalpaşa'nın %52,1'ini, Karacabey'in ise %27,5'ini kaplamaktadır. Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçesi ormanlarını oluşturan başlıca ağaç türleri şöyledir; *Fagus orientalis* Lipsky (Kayın), *Quercus* spp. (Meşe türleri), *Pinus nigra* J.F.Arnold (Karaçam) ve *Pinus brutia* Ten. (Kızılçam), *Castanea sativa* Mill. (Kestane), *Tilia tomentosa* Moench (Gümüşi ihlamur), *Laurus nobilis* L. (Defne), *Juniperus oxycedrus* L. (Katran ardıcı), *Carpinus betulus* L. (Gürgen), *Fraxinus ornus* L. (Çiçekli dişbudak). Karacabey'de denize yakın yerler ile iç kısımlar farklılıklar göstermektedir. İlçenin kuzeyindeki denize yakın kısımlarda Akdeniz bitkileri ile ılımlı kışlara dayanan nemcil ormanlar bulunmaktadır.

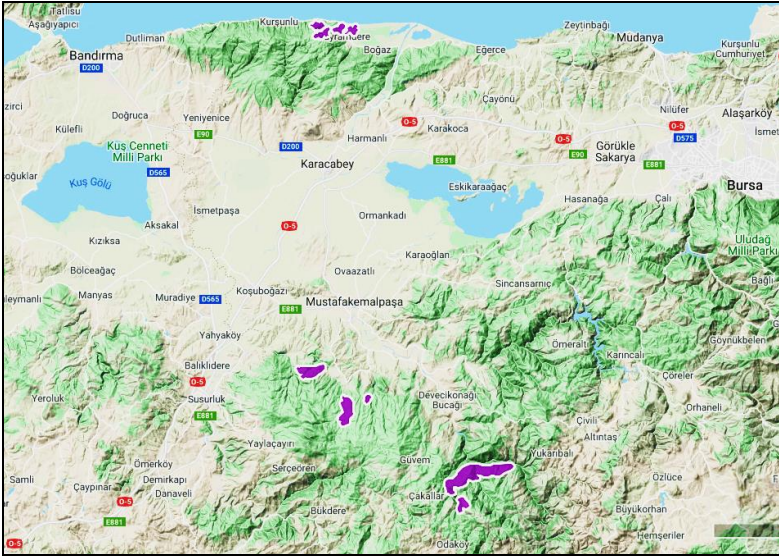
**T. baccata Bireylerinin Tespiti:** Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçeleri 2017 ve 2018 yıllarında belirli zaman periyotlarında ziyaret edilmiştir. Burada öncelikle yöre halkı ile görüşülüp porsuk ağacının yoğun olarak görüldüğü yerlere dair bilgiler derlenmiştir. Daha sonra türe ait bireylerin bulunduğu konumlara gidilerek kapsamlı bir çevre araştırması yapılmıştır. *T. baccata* bireylerinin görüldüğü Mustafakemalpaşa'da Karapınar, Alpağut, Sarımustafalar, Muradiyesarnıç ve Paşalar köyleri çevresinde, Karacabey'de ise Yeniköy ormanlarında arazi taramasına ağırlık verilmiştir. Çalışmada tespit edilen 4 cm çapın üstündeki bireylerin çap ve boyları ölçülmüştür. Ayrıca buldukları yerin mülkiyet durumu, bakışı, rakım ve koordinat bilgileri kaydedilmiştir. Ayrıca bireylerin belirlendiği yetiştirme ortamları, türün gençlikleri ve doğal gelişme durumu ile ilgili gözlemler yapılmıştır.

**Etnobotanik bilgiler:** Türün etnobotanik özelliklerinin ortaya konması amacıyla porsuk ağacının dağılım gösterdiği yörelerdeki yerel halk ile yüz yüze görüşmeler yapılmıştır. Türün tanıma durumu, yerel isimleri, odununun ve diğer kısımlarının nerelerde kullanıldığı kaydedilmiştir.

### 3. Bulgular

#### 3.1. Porsuk ağacının Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerinde doğal olarak bulunduğu sahalar

Araştırma alanı olarak belirlenen ilçelerde yapılan arazi taramasında toplam 172 adet *T. baccata* bireyi tespit edilmiştir (Şekil 2). Mustafakemalpaşa ilçesinde 133 adet, Karacabey ilçesinde ise 39 adet *T. baccata* bireyi belirlenmiştir. Özellikle porsuk ağacı bireylerinin yoğun olarak tespit edildiği yerler arasında; Mustafakemalpaşa ilçesi Gürdendağ Orman İşletme Şefliği'ne bağlı olan Alpağut, Karapınar, Sarımustafalar, Muradiyesarnıç ve Paşalar mevkiileri bulunmaktadır (Şekil 2). Karacabey ilçesinde ise sadece Yeniköy'de porsuk ağacı bireylerine rastlanmıştır.



Şekil 2. *T. baccata* bireylerinin tespit edildiği noktalar (♦)

Farklı yörelerde tespit edilen porsuk bireyleri arasında belirgin bir rakım farkı bulunmaktadır. Mustafakemalpaşa ilçesinde belirlenen *T. baccata* bireyleri en düşük 315 m yükselti ile Alpağut'da tespit edilirken, en yüksek 1034 m (ortalama 391 m) yükselti ile Karapınar'da belirlenmiştir. Karacabey ilçesinde belirlenen porsuk ağacı bireyleri ise en düşük 192 m ve en yüksek 360 m (ortalama 308 m) yükselti ile Yeniköy'de tespit edilmiştir. Yapılan arazi taramasında elde edilen bu verilere göre; Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerinde tespit edilen bütün porsuk ağacı bireylerinin yükseklikleri 192 m ile 1034 m arasında dağılım göstermektedir (Tablo 1).

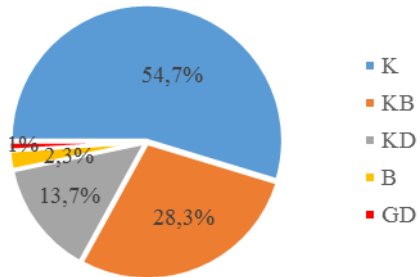
Tablo 1. Porsuk ağacı bireylerinin yükselti değerleri.

	N (örnek sayısı)	Minimum	Maksimum	Ortalama
Mustafakemalpaşa	133	315	1034	391
Karacabey	39	192	360	308
Genel	172	192,0	1034,0	352,5

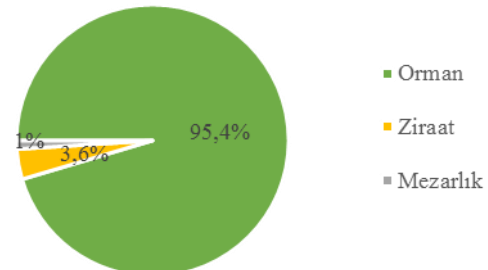
### 3.2. Porsuk bireylerinin bakıya ve mülkiyete göre dağılımı

Mustafakemalpaşa ve Karacabey'deki *T. baccata* bireyleri genel olarak kuzey, kuzeybatı ve kuzeydoğu bakılarda bulunmaktadır. (Şekil 3). Toplam 172 adet porsuk ağacı bireyinin %54,7'si kuzey, %28,3'ü kuzeybatı, %13,7'si kuzeydoğu, %2,3'ü batı ve %1,0'nın güneydoğu bakıda olduğu saptanmıştır. Mustafakemalpaşa ilçesindeki porsuk ağacı bireyleri kuzey, kuzey-doğu, kuzey-batı bakılarda tespit edilirken Karacabey ilçesi Yeniköy'deki bireyler ise kuzeybatı, kuzey ve batı bakılarda yer almaktadır.

Porsuk ağaçları genellikle orman arazisinde bulunmaktadır (Şekil 4). Bireylerin %95,4'ü orman, %3,6'sı ziraat ve %1,0'nın ise mezarlıkta olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3. Porsuk ağacının bakıya göre dağılımı



Şekil 4. Porsuk ağacının mülkiyete göre dağılımı

### 3.3. Bireylerin gelişim durumu

Mustafakemalpaşa ve Karacabey'de tespit edilen *T. baccata* bireyleri arasında gelişim bakımından çok belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Karacabey'deki fertler daha genç, ince çaplı ve kısa boylu olup, en çaplı ve boylu birey 18,5 cm çapında ve 3,6 m boyundadır (Tablo 2). Mustafakemalpaşa'da ise 64,3 cm çap ve 14,2 m boya ulaşan



bireyler bulunmaktadır. *T. baccata* gölgeye dayanan bir ağaç olduğundan dolayı, diğer ağaçların altında yaşayabilmekte, fakat boyu kısa kalmaktadır. En uzun fertler vadi içlerinde gölgeden uzak yeterli ışığa ulaşan ağaçlardır.

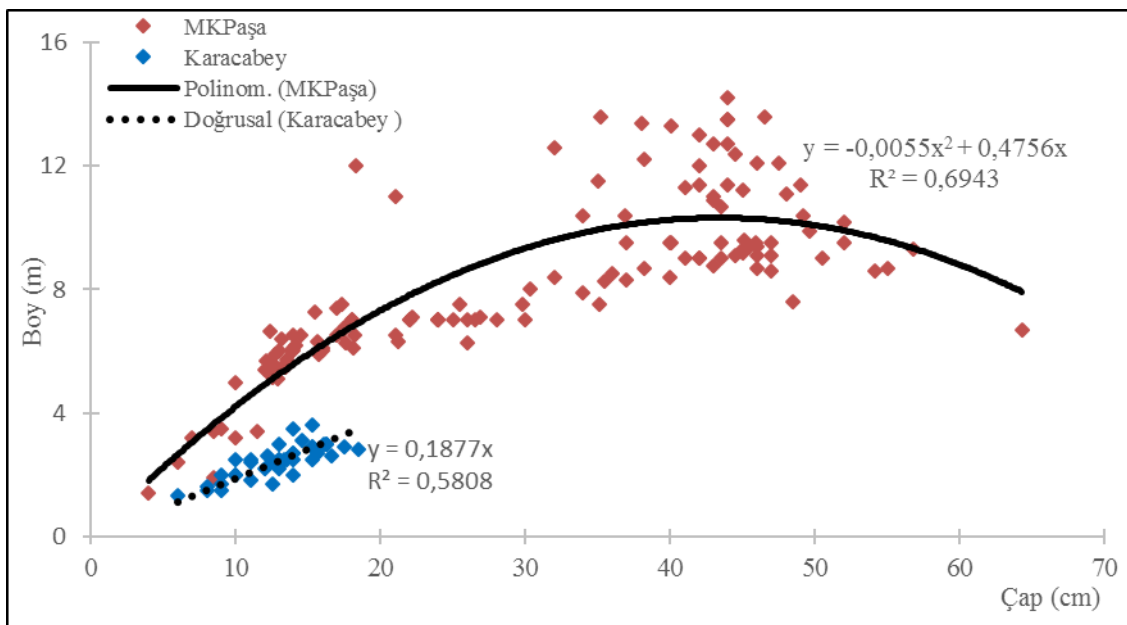
Karacabey'deki tüm fertlerin çap dağılımının içinde yer aldığı yaklaşık 5 ile 20 cm arasında çapa sahip fertler incelendiğinde (Şekil 6), boy bakımından ilçeler arasındaki gelişim farkı açık olarak görülmektedir. Karacabey'deki yetişme ortamı faktörlerinin *T. baccata*'nın iyi gelişim göstermesi için gerekli olan şartlardan kısmen uzak olduğu anlaşılmaktadır. Mustafakemalpaşa'daki fertlerde ilerleyen yaşlarda dolayısıyla kalın çaplı ağaçlarda tepe kurumaları dikkati çekmektedir (Şekil 5). Bundan dolayı kalın fertlerin boyları yaklaşık 45 cm çaptan sonra düşüş eğilimindedir (Şekil 6).

Tablo 2. Porsuk ağacı bireylerinin çap ve boy değerleri.

		N(örnek sayısı)	Minimum	Maksimum	Ortalama	Stdsapma
MKPaşa	Çap (cm)	133	4,0	64,3	30,3	14,7
	Boy (m)	133	1,5	14,2	8,2	2,7
Karacabey	Çap (cm)	39	6,0	18,5	12,9	2,9
	Boy (m)	39	1,3	3,6	2,4	0,5
Genel	Çap (cm)	172	4,0	64,3	26,3	14,9
	Boy (m)	172	1,3	14,2	6,9	3,4



Şekil 5. Yaşlı porsuk ağaçlarında tepe çökmeleri ve kurumalar, Karapınar, M.K.Paşa.

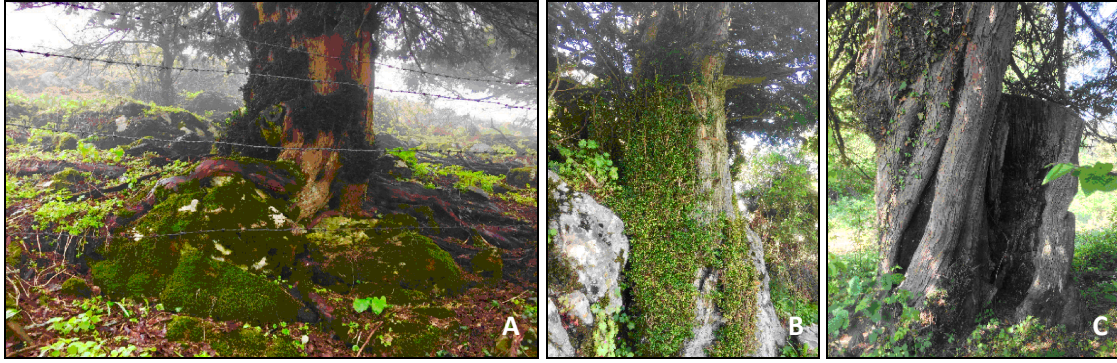


Şekil 6. Mustafakemalpaşa ve Karacabey'deki bireylerin çap-boy grafiği

### 3.4. Porsuk ağacı bulunan sahalardan gözlemler

Yöredeki yayılışlar arasında vadi içinde olma durumu, yükselti (dolayısıyla ortalama sıcaklık) gibi bazı belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Gürgendağ Orman İşletme Şefliği Karapınar civarındaki *T. baccata* ağaçları yöredeki en boyutlu bireylerdir. Alanda tespit edilen porsuk ağacı bireyleri kayın meşçeresi içerisinde yer almakta olup, saha nemli kalkerli bir yapıya sahiptir. Bu meşçerenin ortalama yükseltisi 1025 metredir (Şekil 6). Mevcut kalın çaplı *T. baccata* bireyleri kısmen zarar görmüş dış görünüşleriyle oldukça dikkat çekicidirler. Alan kuzeybatı bakıda olup taşlık, kayalık, engebeli bir arazi özelliği taşımaktadır.

Çeşitli boy ve çapta gelişim göstererek günümüze kadar ulaşan bireyler arasında tepe formu bozukluğu bulunan, kökleri dışarıda olan ve otlatma baskısına maruz kalmış bireyler de bulunmaktadır (Şekil 7). Porsuk bireyleri genel olarak kısa boylu ve kalın çaplıdır. Alanda gövde formu düzgün olmayıp yaşlı içi boş olan ve kar baskısı görmüş bireyler de bulunmaktadır.



Şekil 7. Kayalık arazide yaşlı porsuk ağaçları (A, B), ve zarar görmüş yaşlı bir birey (C), Karapınar, M.K.Paşa

Porsuk ağaçları Mustafakemalpaşa ilçesi Gürgendağ Orman İşletme Şefliği'ne bağlı Alpağut köyünde yaygın olarak bulunmaktadır. Alpağut mevki 38-39-40 ve 9 no'lu bölme alanları içerisinde yer alan porsuk ağacı bireyleri dere vejetasyonunu takip eden dar bir şerit üzerinde yer almaktadır (Şekil 8). Özellikle çok sayıda bireyin bulunduğu 9 numaralı bölme içerisinde yaklaşık olarak 250–300 metrelik bir dere vejetasyonu boyunca düzgün fenotipli bireyler bulunmakta olup, alanda tohumdan gelişen genç fidanlar da mevcuttur. Tek ağaç halinde bulunan bireyler korunaklı dere vejetasyonu üzerinde karşılıklı olarak yer almaktadır. Bu bölmede, kuzey bakıda yer alan porsuk ağacı bireylerinin karışıma girdiği türlerin %60'ı *Fagus orientalis* (Kayın) olup, %40'ını ise *Quercus* spp. (Meşe türleri) oluşturmaktadır. Alandaki bireyler serbest gelişim sağlamış, iyi bir tepe formuna ve silindirik gövdeye sahiptirler.



Şekil 8. Dere vejetasyonu ve serbest gelişmiş boylu bir porsuk ağacı, Alpağut-MKPaşa

Karacabey ilçesi Yeniköy'de tespit edilen bireyler ince çaplı ve kısa bireyler olup nispeten daha gençtir. Bu alanda *Alnus glutinosa* (Kızılağaç), *Fraxinus ornus* (Çiçekli dişbudak) ve *Platanus orientalis* (Çınar), *Castanea sativa* (kestane), *Arbutus unedo* (Kocayemiş), *Laurus nobilis* (defne), *Tilia tomentosa*, (gümüşü ihlamur), *Cornus mas* (kızılcık), *Prunus spinosa* (Yabani erik) gibi nemcil ortamları tercih eden taksonlar *T. baccata*'ya eşlik etmektedirler.

Çalışma sahalarda yaşlı bireylerin yakınında yer yer tohumdan çimlenerek gelişmiş fidanlar gözlemlenmiştir. *T. baccata* tohumları döküldükten sonra ikinci veya üçüncü yılda çimlenmesine ve ilk yıllarda oldukça

yavaş büyümesine rağmen arazide serpili bulunan bireyler yakınında gençlikler görülebilmektedir. Bireylerin bulunduğu yerler genel olarak tohumların çimlenmesine elverişlidir. Ancak nemli ortamdan dolayı gençlik üzerinde yoğun bir diri örtü baskısı bulunmaktadır.

### 3.5. Porsuk ağacının kullanımına dair etnobotanik bulgular

Mustafakemalpaşa ilçesinde *T. baccata* porsuk ağacı olarak bilinmeyip yöresel adıyla ‘‘Gürdüç’’ olarak tanınmaktadır. Bu adın verilmesinin nedeni ardıca benzemesi fakat daha gür dallanma ve taç yapması olarak açıklanmaktadır. Araştırma alanı içerisinde porsuk ağacı kullanımının belirlendiği Mustafakemalpaşa ilçesi Karapınar, Alpağut, Dallica köylerinde türün meyvesinin kırmızı renkte olduğu, kuşlar ve yaban hayvanları tarafından tüketildiği bilinmektedir. Genel olarak yayılış gösterdiği yerlerde ve diğer köylerde insanlar türün zehirli olduğunun farkındadır.

Alpağut köyünde ilaç tedavisinin yaygın olmadığı zamanlarda yöre halkı, iyileşemeyecek durumda olan hayvanlarına acı çekmemesi için porsuk ağacının yeşil sürgünlerini yedirip ötenazi uyguladıklarını kaydetmişlerdir. Geleneksel hayvancılıkta kullanılan bu yöntemin babadan oğula geçen, atalarından kalma bir kültür olduğu ifade edilmiştir. Bu ötenazi uygulaması civar köylerde yaygın olmayıp, hayvancılık ile uğraşanlar tarafından geçmişte yapıldığı belirtilmiştir.

Yörede az bulunmakla beraber, ‘‘gürdüç (porsuk ağacı) odununun daha sağlıklı ve dayanıklı olduğu’’ inancı yaygındır. Dallica köyündeki yaşlıların ifadesine göre, gürdüç ağacı odunu ahşap cami minaresinin yapımında kullanılmıştır. Betonarme minare uygulamasının olmadığı yıllarda dayanıklılığında dolayı porsuk ağacı odununun orta dikme şeklinde inşa edilip, cami minaresi olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Odununun sağlamlığı ile ilgili yerel halkın ‘‘Demirden daha dayanıklıdır’’, ‘‘Odununun özü kırmızı cam gibidir’’, ‘‘Kabuğu çürüse de içi çürümez’’ şeklindeki inanç ve ifadeleri dikkati çekmektedir. Odununun dayanıklılığı sebebiyle üzüm asmaları ve iskele direklerinin kurulumunda da tercih edilmiştir.

Karapınar’da da yöre halkı çatı iskelesinin oluşturulması, indirme ve merdiven yapımında porsuk odunu kullandıklarını belirtmişlerdir. *T. baccata* bireyinin tespit edilmediği Mustafakemalpaşa ilçesi Devcekonağı mevkiinde bulunan eski caminin ahşap kapılarının yapımında da porsuk ağacının odunundan yararlanıldığı belirtilmiştir. Diğer yandan Karacabey ilçesi Yeniköy’deki *T. baccata* bireyleri çap ve boy bakımından küçük olup, türün odununun yerel halk tarafından kullanılmadığı belirlenmiştir.

## 4. Sonuçlar ve tartışma

*T. baccata*, *Taxaceae* (Porsukgiller) ülkemizde popülasyonu azalmakta olan ve yer yer korunmaya alınmış bir kıymet ağacı olup, Bursa florası için de önemli doğal ve tıbbi bitkilerden biridir. Mustafakemalpaşa ve Karacabey’de genellikle dere içlerinde bazen de yamaç arazilerde tek ağaç, küme veya küçük gruplar halinde yayılış göstermektedir. Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerindeki *T. baccata* gen kaynaklarının araştırıldığı bu çalışmada; Mustafakemalpaşa ilçesine bağlı; Alpağut, Karapınar, Sarımustafalar, Muradiyesarnıç, Paşalar köyleri ile Karacabey ilçesine bağlı Yeniköy’de toplam 172 adet *T. baccata* bireyi tespit edilmiştir. Porsuk ağaçlarının yayılışı bazı mevkilerde toplanmıştır. Mustafakemalpaşa ilçesinde 133 adet, Karacabey ilçesinde 39 adet birey tespit edilmiştir. Porsuk ağacı Mustafakemalpaşa ilçesi Gürgendağ Orman İşletme Şefliği sınırları içerisinde nispeten daha yoğundur.

*T. baccata* ülkemizde çoğunlukla Karadeniz ikliminin hâkim olduğu Kuzey Anadolu’da nemli dere vadilerinde, kuzeye bakan gölgeli yamaçlarda Avrupa-Sibirya elemanı bitkilerle dar korunaklı alanlarda bulunmaktadır. Mustafakemalpaşa ve Karacabey’de de türün doğal olarak bulunduğu yer yer bu özel alanlar mevcuttur. Benzer şekilde kuzey bakılı nemli vadilerde hassas yetiştirme ortamlarında Sultan Dağları’nda, Amanos’larda, Çanakkale Kaz Dağları’nda, Denizli Akdağ’da münferit veya küçük gruplar halinde *T. baccata* fertleri görülmektedir [5]. Türün Avrupa’nın kuzeyindeki dağılımı düşük sıcaklıklar ve su baskınları ile, Avrupa’nın güneyinde ise yüksek sıcaklıklar ve kuraklık ile sınırlıdır. Ekolojisine uygun yetiştirme ortamlarında taşkın yatakları dışındaki alanlarda yetişmektedir. Ancak en iyi gelişimini orta dereceli sıcaklıklarda okyanusal iklimlerde, kuzey yamaçlarda nispeten yüksek rakımlarda göstermektedir [15, 23].

Türkiye’de *T. baccata* ağaçları mülkiyet bakımından genel olarak orman alanlarında bulunmaktadır [26]. Bu çalışmada da tespit edilen bireylerin %95,4’ünün ormanlık alanda yer aldığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla türün yerinde korunması için ormandaki faaliyetler önem kazanmaktadır. Ormanda sınırlı sayıda görülen *T. baccata* bireylerinin bulunduğu sahalarda özel duyarlılık gösterilmesi gerekmektedir.

Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerinde bu çalışmada tespit edilen porsuk ağacı bireyleri 192 m ile 1034 m yükseltiler arasında dağılım göstermektedir (Tablo 2). *T. baccata*’nın Türkiye’deki yayılışı genellikle 1000-1900 m arasındadır [5]. Türün Kuzey Anadolu’da 600 m’ye kadar inebildiği, Amanos Dağlarında ise 2000 m’lere kadar çıktığı belirtilmektedir [3]. Bu çalışma ile *T. baccata* bireyleri araştırma alanında en düşük 192 m yükselti ile Karacabey ilçesi Yeniköy’de tespit edilirken, en yüksek 1034 m yükselti ile Mustafakemalpaşa Karapınar mevkiinde belirlenmiştir. Türkiye’de yayılış gösterdiği yükselti aralığı bölgelere göre değişmektedir. Araştırma bölgesindeki dikey dağılım genel olarak düşüktür. Karacabey-Yeniköy’de 192 m rakımda görülen birey, ulaşılan kayıtlara göre ülkemizdeki en düşük rakımdaki *T. baccata* ağaçlarından biridir. İklim değişikliğinden en önce etkilenecek türler arasında bulunan porsuk ağacının bölgedeki birey ve popülasyonları alt yayılışlardan itibaren izlenmelidir.

Araştırma alanı içerisinde yürütülen çalışmada toplam 172 adet porsuk ağacı bireylerinin %54,7'si kuzey, %28,3'ü kuzeybatı, %13,7'si kuzeydoğu, %2,3'ü batı ve %1,0'nun güneydoğu bakıda olduğu tespit edilmiştir. Türe ait bireylerin bakı tercihi literatür bilgilerine de uygun olarak genelde korunaklı kuzey bakılardır. *T. baccata* stresli yetişme ortamları, kuraklık ve dona karşı duyarlı bir türdür [4]. Türün bakı tercihleri hassas ekolojik isteklerini ve çevre faktörlerine karşı duyarlılığını yansıtmaktadır.

Bölgede porsuk ağaçlarının sadece dere içlerinde yer almadığı, nemli kalkerli kayalık zeminlerde de yetiştiği dikkati çekmektedir. *T. baccata* sıkışmış zeminlere nüfuz edebilen geniş yayvan bir kök sistemine sahip olup [18], yeterli nemin bulunduğu kayalık ve yüksek eğimli arazi şartlarında tutunabilmekte ve iyi gelişim gösterebilmektedir [3, 15]. Sarp arazide sığ kök yapısı ile kökleri dışarda olan bireyler de bulunmaktadır. Alpağut köyünde alt yamaçta dere vejetasyonunu takip eden bireyler, Karapınar mevkiinde orta ve üst yamaçta kalkerli kayaç yapı üzerinde kalın çaplı ve nispeten kısa boylu bireyler varlığını sürdürmektedir. Bursa'nın en yaşlı ağaçlarından olan bu ağaçlarda yaşlılığa ve stres faktörlerine bağlı tepe kurumaları ve çökmeleri görülmektedir. Bundan dolayı yaklaşık 45 cm çaptan sonra ağaçların boyları kısalma eğilimindedir. Bu ekstrem yetişme ortamında biyotik ve abiyotik faktörlerin bireyler ve tepe formlarındaki etkileri araştırılmalıdır.

*T. baccata* tohumu saran kapçık (arillus) ile yaban hayatına besin kaynaklığı da yapmaktadır [13]. Kuşlar, kemirgenler ve sincaplar porsuk tohumunu saran kapçıklarını tüketerek tohumların dağılmasına yardım etmektedirler [23, 25]. Çalışma alanında da porsuk ağacının kapçıklarının yaban hayvanları, tavşanlar ve kuşlar tarafından tercih edildiği tespit edilmiştir.

Mustafakemalpaşa ilçesi Alpağut mevkiinde çok sayıda bireyin bulunduğu 9 numaralı bölme içerisinde dere kenarında yaklaşık 250–300 m uzunluğundaki şerit içinde düzgün fenotipli bireyler bulunmakta olup, alanda yer yer tohumdan gelen gençlik mevcuttur. Tek ağaç ve serpili halde bulunan bireyler dere vejetasyonu üzerinde karşılıklı olarak yer almaktadır. Dere kenarındaki bu kuşak koruma altına alınıp, "*T. baccata* gen koruma alanı" olarak ayrılabilir.

Porsuk ağacının tohumlarında derin morfofizyolojik dormansi bulunmaktadır ve çimlenme için uzun katlama süreleri gerekmektedir [21, 32]. Doğada dökülen tohumların çimlenmesi genel olarak ikinci veya üçüncü yılda gerçekleşmektedir [14]. Kuşlar sindirim sisteminden geçirek *T. baccata* tohumlarının yayılmasına ve çimlenmesine katkıda bulunurlar [22]. Tohumlar için nemli çimlenme yatağı kritik önemdedir ve doğada odun çürüğü, nemli yosunlar ve ölü örtü elverişli çimlenme ortamlarıdır. Araştırma sahasında *T. baccata* ağaçlarının yakınında yer yer tohumdan çimlenerek gelişen porsuk gençlikleri görülmektedir. Gençliğinde oldukça yavaş büyüyen sınırlı sayıdaki bu genç bireyler boğucu diri örtü rekabetinden korunmalıdır.

Etnobotanik çalışmalar, insanlarla bitkilerin yüzyıllardan beri devam eden karşılıklı etkileşimlerini kaydetmektedir [12, 27]. Yörede porsuk ağacına yakıştırılan "*gürdüç*" ismi oldukça anlamlıdır. Tür kısmen ardıca benzemekle beraber, özellikle gür, koyu yeşil ve sık dallı olmasından dolayı yerel halkın türe bu adı verdiği yorumlanmaktadır. *T. baccata* değişik yörelerde "gidirme" (Dereçine-Afyon), "püren" (Bolu) ve "kadım" ağacı olarak da bilinmektedir [2].

Yöre halkı porsuk ağacı odununun sağlam olduğunu eskiden beri bilmektedir ve yapacak olarak kapı, minare, merdiven yapımı gibi işlerde kullanmışlardır. *T. baccata* dayanıklı, sert, ağır ve elastiki bir oduna sahiptir [20]. Odunu çok kit olmasına rağmen günümüzde Batı Karadeniz Bölgesi'nde mobilyacılık, lambri, oymacılık ve ahşap el sanatlarında yer yer değerlendirilmektedir. Dayanıklı ve elastiki kalın sürgünleri de çok eski çağlardan beri yay yapımında kullanılmıştır [17].

Türün zehirli olduğu yerel halk tarafından bilinmektedir. Geçmişte özellikle yaşlanan binek hayvanlarının porsuk yaprakları yedirmek suretiyle zehirlenmesi ve ötenazi yapılması kaydedeğer bir ayrıntıdır. İnsanlar porsuk ağacının tohumu saran kapçıklarının kırmızı renkte olduğunun, kuşlar ve yaban hayvanları tarafından tüketildiğinin de farkındadır.

Türkiye ormanlarında vadi içlerinde dereye yakın orman yolları çok yaygındır. Bu çalışmada sınırlı sayıdaki mevcut *T. baccata* bireyleri vadi içlerindeki korunaklı ortamlarda orman yollarının kenarında sıklıkla görülmekte olup, orman yollarının yapımı ve bakımı sırasında olumsuz etkilenebilecek mesafededir. Özellikle dere yakınlarındaki orman yollarının yapımı ve bakımı sırasında, az sayıdaki serpili ağaçlar dikkate alınarak işlemler yürütülmelidir.

Küresel iklim değişikliği birçok türün gen kaynaklarını tehdit etmekte ve yaşam alanlarını daraltmaktadır. Bu türlerden biri de özel ve hassas habitat istekleri olan porsuk ağacıdır ve doğal yayılış alanlarında etkin koruma önlemlerine ihtiyaç vardır. Doğal gençleştirme ve orman bakımı gibi silvikültürel işlemlerde *T. baccata* gibi serpili bulunan türler ve bunların gençlikleri korunmalı ve teşvik edilmelidir.

Doğal olarak bulunduğu Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçelerinde tür ile ilgili farkındalık, gölge sağlama, görsel perdeleme, hava kalitesini iyileştirme, rüzgâr kırma, ses perdelemesi ve sınırlama, yaban hayatına destek sağlama gibi amaçlarla *T. baccata* kent bitkilendirmelerinde değerlendirilmelidir.

## Kaynaklar

- [1] Aksoy, H. (1985). Yenice orman işletmesindeki meşe ve porsuk bakir orman kalıntıları örnekleriyle orman rezervleri. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 58-74.



- [2] Baytop, A. (1994). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil Tarih Yüksek Kurumu. TDK, Ankara.
- [3] Browicz, K. (1982). Chorology of trees and shrubs in South-West Asia and adjacent regions. Vol. 1. Chorology of trees and shrubs in South-West Asia and adjacent regions. Vol. 1.
- [4] Brzeziecki, B., & Kienast, F. (1994). Classifying the life-history strategies of trees on the basis of the Grimian model. *Forest Ecology and management*, 69(1-3), 167-187. [https://doi: 10.1016/0378-1127\(94\)90227-5](https://doi.org/10.1016/0378-1127(94)90227-5)
- [5] Davis, P. H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.
- [6] Dempsey, D., & Hook, I. (2000). Yew (*Taxus*) species-chemical and morphological variations. *Pharmaceutical Biology*, 38(4), 274-280. [https://doi: 10.1076/1388-0209\(200009\)3841-AFT274](https://doi.org/10.1076/1388-0209(200009)3841-AFT274)
- [7] Erdemoğlu, N., & Şener, B. (1999). Taksol ve türevlerinin biyosentezi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28(2), [https://doi: 99-116. 10.1501/Eczfak\\_0000000335](https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000335)
- [8] Eriksson, G., Namkoong, G., & Roberds, J. H. (1995). Dynamic Conservation of Forest Tree Gene Resources. *Forest Genetic Resources*, 23, 2-8.
- [9] FAO. (2014). The State of the World's Forest Genetic Resources. Rome. [<http://www.fao.org/forestry/fgr/64582>].
- [10] Grime, J.P. (1979). Plant Strategies and Vegetation Processes. John Wiley, Chichester, UK.
- [11] Güner, H.T. (2018). *Taxus* L. (Porsuklar), (Ed. Ü. Akkemik) Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları. OGM Yayınları, Ankara. s:136.
- [12] Kendir, G., & Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye'de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30 (1), 49-80.
- [13] Lowe, J. (1897). The Yew Trees of Great Britain and Ireland. Macmillan, London, UK.
- [14] Melzack, R. N. (1979). Some aspects of variation in *Taxus baccata* L. in England. PhD Thesis, University of Hull, UK.
- [15] Mercuri, A. M., Torri, P., Casini, E., & Olmi, L. (2013). Climate warming and the decline of *Taxus* airborne pollen in urban pollen rain (Emilia Romagna, northern Italy). *Plant Biology*, 15, 70-82. doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00624.x
- [16] Miller, R. W. (1980). A brief survey of *Taxus* alkaloids and other taxane derivatives. *Journal of Natural Products*, 43, 425-437. [https://doi: 10.1021/np50010a001](https://doi.org/10.1021/np50010a001)
- [17] Parlak, S. (2020). Türk yaylarında kullanılan ağaç türleri ve özellikleri. *Ağaç ve Orman*, 1 (2), 25-34.
- [18] Rodwell, J.S. (1991). British plant communities, vol. 1. Woodlands and scrub. Cambridge University Press, UK.
- [19] Saatçioğlu, F. (1971). Silvikültür II (Silvikültürün Tekniği), İ.Ü. Orman Fak. Yayın No: 172, İstanbul, 562s.
- [20] Sadıkoğlu, N., & Alpınar, K. (2000). Bartın: from an ethnobotanical point of view. In XIII th meeting on plant originated crude drugs proceeding book. Marmara University Press (pp. 87-100).
- [21] Sarıbaş, M. (2000). Bazı Bitki Tohumlarında Çimlenme Aktivasyonu. *Journal of Agriculture and Forestry*, 1 (6), 24.
- [22] Suszka, B. (1985). Conditions for after-ripening and germination of seeds and for seedling emergence of the English yew (*Taxus baccata* L.). *Arboretum Kórnickie*, 30, 285-338.
- [23] Thomas P.A., & Polwart A. (2003). *Taxus baccata* L. biological flora of the British Isles 229. *Journal Ecology* 91: 489-524. [https://doi: 10.1046/j.1365-2745.2003.00783.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2003.00783.x)
- [24] TPL (2020). The Plant List (TPL). *Taxus*. <http://www.theplantlist.org/>. [20.03.2021].
- [25] Williamson, R., & Williamson, K. (1973). The bird community of yew woodland at Kingley Vale, Sussex. *British Birds*, 66, 12-23.
- [26] Yaltırık, F. (1988). Dendroloji I Gymnospermae (Açık Tohumlular). İÜ. Yay. No: 3443, Or. Fak. Yay. No: 386, İstanbul.
- [27] Yılmaz M. & Ok T. (2012). Geyik Elması (*Malus trilobata* C.K.Schneid.)'ın bazı biyolojik, ekolojik ve etnobotanik özellikleri. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 156-160.
- [28] Yılmaz, M. (2020). Türk kızılbaş (*Alnus orientalis* Decne.)'nın tohum özellikleri. *Ağaç ve Orman*, 1(1), 58-65.
- [29] Yılmaz, M., & Yüksel, M.C. (2016). Geyik Elması (*Malus trilobata* CK Schneid.)'nın Etnobotanik Özellikleri ve Fidan Üretimi. *El-Cezeri Journal of Science and Engineering*, 295 3(1):1-8. [https://doi: 10.31202/ecjse.67148](https://doi.org/10.31202/ecjse.67148)
- [30] Yılmaz, M. (2014). New Locality Records and Conservation Of Caucasian Wingnut (*Pterocarya Pterocarpa* (Michx.) Kunth Ex I.Iljinsk.) in Southern Turkey, *Anadolu University, Journal of Science and Technology - C – Life Sciences and Biotechnology* 3 (2): 39-44. [https://doi: 10.18036/btdc.75287](https://doi.org/10.18036/btdc.75287)
- [31] Yılmaz, M., & Ok, T. (2015) Seed characteristics of *Flueggea anatolica*, an endangered forest shrub species. *Dendrobiology* 74: 59-67. [http://doi: 10.12657/denbio.074.006](http://doi.org/10.12657/denbio.074.006)
- [32] Young, J.A. & Young, C.G. (1992). Seeds of Woody Plants in North America. Dioscorides Press, Portland.
- [33] Alan, M. (2017). Orman gen kaynaklarının korunmasında marjinal populasyonların önemi. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, Ek Sayı 2 (S), 55-62. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/pub/biodicon/issue/55731/762183>



## Diversity of thermophilic archaea and their biotechnological uses

Rümeysa Gülsu ÖZKAN <sup>\*1</sup>, Gamze BAŞBÜLBÜL <sup>1,2</sup>  
ORCID: 0000-0002-2379-0696; 0000-0001-8151-6321

<sup>1</sup> Aydın Adnan Menderes University, Institute Of Health Sciences, Molecular Biotechnology Department, 09000 Aydın, Turkey

<sup>2</sup> Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology, 09000 Aydın, Turkey

### Abstract

Archaea, which constitute one of the three major domains of living things, in terms of both biochemical properties and structural features, are prokaryotic cell types that are separated from eukaryotes and bacteria. The vast majority of members of Archea survive in extreme ambient conditions thanks to their metabolic and molecular adaptations. Typical environments in which pure cultures of archaea species isolated; are hot springs, hydrothermal vents, solfataras, salt lakes, soda lakes. Microbial diversity analysis can be performed both with microbiology-based culture-dependent methods and culture-independent methods using molecular techniques. However, it is still difficult to create conditions in very hot and pressurized environments in laboratory environments and many different taxa can be overlooked. It is not possible to determine archaea types that have not yet been cultured in studies based on culture. Therefore, over the past two decades, the use of molecular techniques involving PCR-based amplification of 16S rRNA genes in environmental samples allows a culture-independent evaluation of microbial diversity. As a result of archaea's ability to function at nearly limit values in terms of temperature, salinity and pH, extremophilic enzymes (extremozymes) are now found in many applications. In this review, general properties of thermophilic archaea, archaeal diversity studies independent of culture, and usage areas of archaeal enzymes in biotechnology are discussed.

**Keywords:** Archaea, thermophilic and hyperthermophilic, culture independent methods, archaeal extremosimes

----- \* -----

### Termofilik arkelerin çeşitliliği ve biyoteknolojide kullanım alanları

#### Özet

Arkeler canlıların üç büyük domaininden birini oluşturan, biyokimyasal özellikleri bakımından hem bakterilerden hem de ökaryotlardan farklı olan, prokaryotik hücre tipinde tek hücreli canlılardır. Arkeler pek çok canlının hayatta kalamayacağı aşırı sıcak, aşırı soğuk ve aşırı tuzlu ve benzeri ekstrem ortamlarda yaşayabilirler. Yakın zamana kadar arkelerin sadece ekstrem ortam koşullarında yaşayabildikleri zannedilirken, son dönemlerde yapılan çalışmalarda arkelerin başka canlı gruplarının bulunduğu normal yaşam ortamlarında da geliştikleri tespit edilmiştir. Arke türlerinin saf kültürlerinin izole edildiği tipik ortamlar; kaplıcalar, hidrotermal bacalar, solfataralar, tuz gölleri, soda gölleridir. Mikrobiyal çeşitlilik analizleri hem mikrobiyoloji temelli kültür bağımlı yöntemlerle hem de moleküler teknikler kullanılarak kültürden bağımsız yöntemlerle yapılabilmektedir. Ancak yine de çok sıcak ve basınçlı çevrelerdeki koşulları laboratuvar ortamlarında oluşturmak zordur ve birçok farklı takson gözden kaçabilir. Kültüre bağlı olarak yapılan çalışmalarda henüz kültüre edilmemiş arke türlerinin belirlenmesi söz konusu değildir. Bu nedenle son yirmi yılda, çevresel örneklerdeki 16S rRNA genlerinin PCR-bazlı amplifikasyonunu içeren moleküler tekniklerin kullanılması, kültürden bağımsız bir mikrobiyal çeşitlilik değerlendirmesine izin vermektedir.

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905412302093; Fax.: +9 902562146687; E-mail: gulsuozaann@gmail.com



Arkelerin sıcaklık, tuzluluk ve pH açısından neredeyse sınır değerlerde işlev gösterme kabiliyetlerinin bir sonucu olarak, ekstremofilik enzimleri (ekstremozimleri) günümüzde birçok uygulamada kullanım alanı bulmaktadır. Bu derlemede termofilik arkelerin genel özelliklerine, kültürden bağımsız arkeal çeşitlilik çalışmalarına ve arke enzimlerinin biyoteknolojide kullanım alanlarına değinilmiştir.

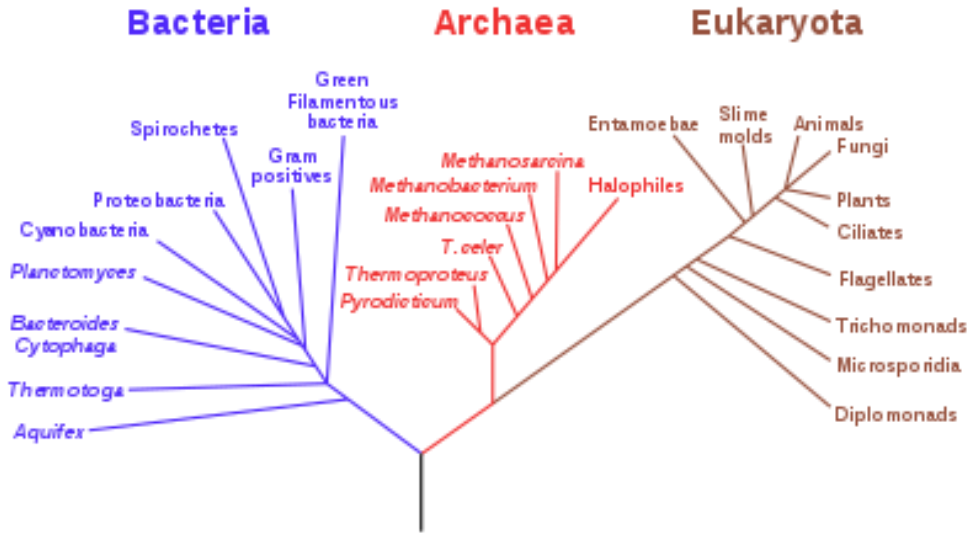
**Anahtar kelimeler:** arke, termofilik ve hipertermofilik, kültür bağımsız yöntemler, arkeal ekstremozimler

## 1. Giriş

Arkeler canlıların üç büyük âleminde birini oluşturan biyokimyasal özellikleri bakımından hem bakterilerden hem de ökaryotlardan farklı olan, prokaryotik hücre tipinde tek hücreli canlılardır. Arkeler çoğu canlının hayatta kalamayacağı aşırı sıcak, aşırı soğuk ve aşırı tuzlu gibi ekstrem ortamlarda yaşayabilirler. Onları diğer canlılardan farklı ve özel kılan da bu özellikleridir. Yakın zamana kadar arkelerin sadece zor ortam koşullarda yaşayabildikleri zannedilirken, son dönemlerde yapılan çalışmalarla arkelerin başka canlı gruplarının yaşayabildiği normal yaşam ortamlarında da buldukları tespit edilmiştir. Arke domaini kendi içinde yaşam alanlarına göre sınıflandırılabilir; Alkalifiller (Alkali sevenler): Bu türler 9 ile 11 arasındaki pH aralıklarında yaşamaktadırlar. Asidofiller (Asit sevenler): Alkalifillerin tam tersi olarak bu arkeler çok düşük pH aralıklarında yaşayabilirler. Halofiller (Tuz sevenler): Kızıldeniz’de, Türkiye’de Tuz Gölü’nde, Ürdün ve İsrail arasındaki Ölü Deniz’de Amerika’nın Utah eyaletinde bulunan Büyük Tuz Gölü’nde, Kaliforniya’nın Owens Gölü gibi tuz oranına çok yüksek olan (%36 ve üzeri tuzluluk) yerlerde yaşayabilmektedirler. Metanojenik arkeler: Bataklıklarda, pis sularda, çiftlik gübresinde, çöplerde ve otçul canlıların sindirim sistemlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Termofiller-Hipertermofiller (Sıcak sevenler): Terminolojik olarak, 50 ° C’den daha yüksek bir maksimum büyüme sıcaklığına sahip organizmalar, termofiller olarak tanımlanmaktadır. Kristjansson ve Stetter’in yaptıkları çalışmalar sonucunda optimal olarak 80° C’nin üzerinde büyüyen mikroorganizmalar hipertermofiller olarak kabul edilmektedir. Günümüzde bilinen, sıcaklık açısından üst yaşam sınırı olan 130 ° C 'ye en yakın sıcaklıkta yaşayabilen bir *Pyrolobus* türü olan Strain 121’dir. Bunlara ek olarak bazı metanojen hipertermofilik türler sıcaklığın 110° C olduğu volkanik bölgelerde bulunurlar [1]. Psikrofiller (Soğuk sevenler): Soğuk seven arke türleri suyun donma noktasındaki aşırı yaşam şartlarına direnç gösteren arkelere dir. Soğuk seven bu arkelerin çoğu sıcaklığı 5°C’nin altındaki yaşam alanlarında yaşarlar.

### 1.1. Arkelerin Tarihi

Dünyaca ünlü moleküler biyolog Carl Woese 1976’da 60 farklı bakteri türünün rRNA’larını analiz ederek bu diziler arasında farklılıklar olabileceğini ortaya koymuştur. Bakterilere çok benzeyen bazı mikroorganizmaların bakterilerden farklı olarak metan ürettiklerini ve bakterilerde görülen rRNA özelliklerinin bu metanojenlerde görülmediğini fark etmiştir. İlk yıllarda Carl Woese’un, çalışmaları sonucu bu kültürdeki mikroorganizmalar “*Archaeobacteria*” olarak tanımlanmıştır. Bu sayede bakterilerin filogenetik sınıflandırılması mümkün hale gelmiştir. 31 Ocak 1980’de yaşamın 3 ana domainden meydana geldiği tarihe geçmiştir [2].



Şekil 1. Yaşamın 3 temel domaini [2]

Arkeleri diğer canlılardan ayıran özellikler olan; ekstrem ortamlarda yaşayabilmesi, metan üretimi gibi özelliklere ek olarak arkeler, bakteri ve ökaryot domaininden hem yapısal hem de işlevsel açıdan oldukça farklı özellikler taşımaktadır.

### 1.2 Arkelerin Taksonomisi

Arkeler filogenetik olarak 5 temel şubeye ayrılmaktadırlar:

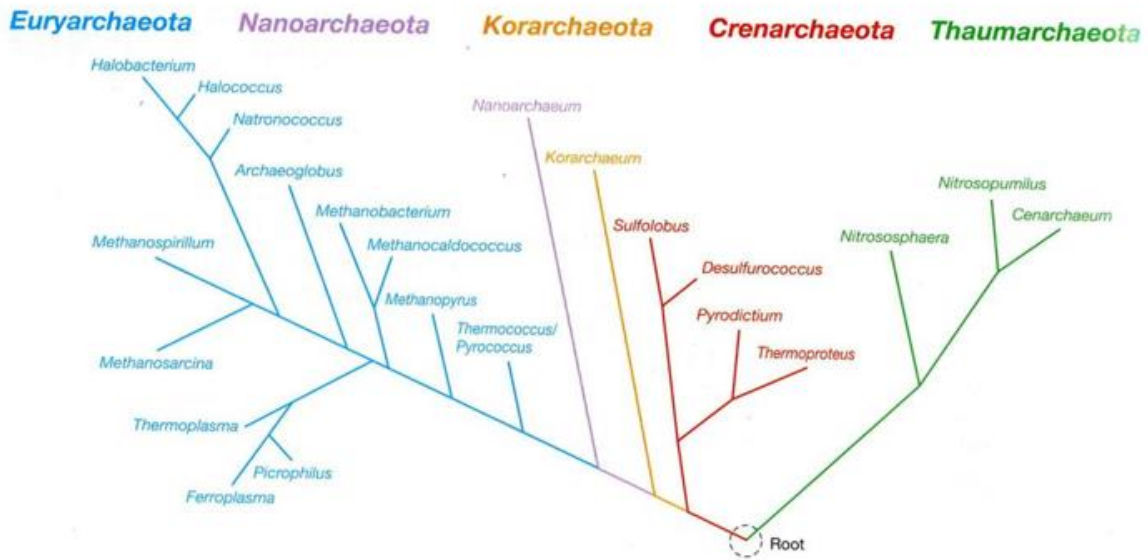
**Crenarchaeota:** Kültürü yapılan arkeler arasında Crenarchaeota üyeleri çoğunlukla, bilinen en yüksek sıcaklık derecelerinde üreyebilen *hipertermofilik* mikroorganizmaları içermektedir.

**Euryarchaeota:** Crenarchaeotalar gibi Euryarchaeotaların da büyük bir kısmı ekstrem ortamlarda yaşamaktadır. Bu şube metanojenik Archaea ve bazı ekstrem halofilik Archaea cinslerini içermektedir.

**Korarchaeota:** Korarchaeota ilk olarak Yellowstone'da bir sıcak su kaynağında yaşayan mikroorganizmaların metagenomik analizleri yapılarak keşfedilmiştir. Bu organizmaların saf kültürleri bulunmamaktadır.

**Nanoarchaeota:** Bir diğer Archaeal şube Nanoarchaeota'dır. Bu şubenin tek cinsi olan *Nanoarchaeum* bir Crenarchaeota olan *Ignicoccus* hücrelerine tutunarak yaşayan çok küçük bir parazitik prokaryottur.

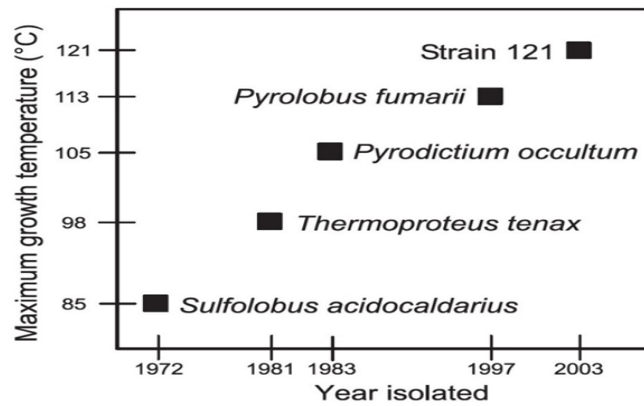
**Thaumarchaeota:** *Cenarchaeum symbiosum* 'un sekanslanması sonucu keşfedilmiş olan ve Archaea domainine son eklenen şube Thaumarchaeota diğer filumlardan oldukça farklıdır. Thaumarchaea, su ve karasal ortamlardaki önemli amonyak oksitleyicilerdir ve nitrifikasyonda yer aldığı tespit edilen ilk arkedir. Genellikle denizlerde ve açık okyanuslarda bulunurlar [3].



Şekil 2. Archaea filogenetik ağaç [2]

### 1.3. Termofilik ve Hipertermofilik Mikroorganizmalar

Terminolojik olarak, 50 ° C'den daha yüksek bir maksimum büyüme sıcaklığına sahip organizmalar, termofiller olarak tanımlanmaktadır. Kristjansson ve Stetter [21] 'in yaptıkları çalışmalar sonucunda optimal olarak 80° C'nin üzerinde büyüyen mikroorganizmalar hipertermofiller olarak kabul edilmektedir. Günümüzde bilinen, sıcaklık açısından üst yaşam sınırı olan 130 ° C 'ye en yakın sıcaklıkta yaşayabilen bir *Pyrolobus* türü olan Strain 121'dir ve Arke domainin üyesidir. Bunlara ek olarak bazı metanojen hipertermofilik türler sıcaklığın 110° C olduğu volkanik bölgelerde bulunurlar [4].



Şekil 3. Bazı hipertermofilik mikroorganizmaların en yüksek büyüme sıcaklıkları [5]

1972'de Brock ve arkadaşları tarafından bildirilen ve o tarihe kadar bilinen en yüksek sıcaklığa sahip olan mikroorganizma *Sulfolobus acidocaldarius* olarak tanımlanmıştır. Bu tür ilk olarak bakteri domaininde yer almıştır ancak 1980'de yaşamın üç ana domainden meydana geldiğinin tarihe geçmesiyle birlikte *S.acidocaldarius* 'un Archaea domainine ait olduğu belirlenmiştir. Bu tür, optimum olarak 75- 80 ° C sıcaklıkta gelişmektedir. Hipertermofiller ise Zillig ve ark. tarafından 1981'de keşfedilmiştir [2][6].

#### 1.4. Termofilik Arkelerin Habitatları

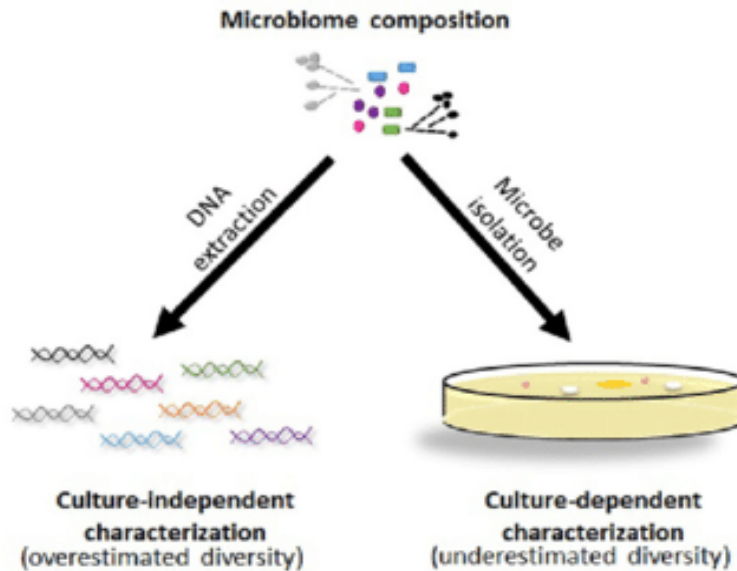
Termofilik arkeler sıcak çevrelerden izole edilmektedirler. Bu çevreler doğal veya yapay kaynaklar olabilir. Termofilik arkeal türlerin saf kültürlerinin izole edildiği tipik ortamlar;

- Kaplıcalar: Sıcak yeraltı sularından yararlanmak için yeryüzüne çıktıkları kaynakların çevresine kurulan hamam görünümündeki tesislere denir.
- Hidrotermal bacalar: Hidrotermal bacaların iç kısımlarında sıcaklık ortalama 350-400 °C arasındadır. Ağız kısımlarında ise ortalama 150 °C dolaylarındadır.
- Solfatoralar: Fümerol (latince) çoğunlukla yer kabuğu sıcaklığının çok yüksek olduğu, yakın dönemde etkin yanardağların yer aldığı bölgelerde, karbondioksit, sülfürdioksit, hidrojenklorid ve hidrojen-sülfid gibi gazların, buhar şeklinde salındığı, yer kabuğundaki açıklıklardır [7].
- Derin ve sıg hidrotermal sistemler [8]

Bununla birlikte termofiller; kompost yığınları ve kömür atık yığınları gibi ortamlarda da bulunabilirler. İnsan yapımı termal ortamlar olarak; evsel ve endüstriyel sıcak su sistemleri, yüksek sıcaklıktaki endüstriyel prosesler, kâğıt işleme makineleri, yiyecek işleme tesisleri örnek verilebilir.

##### 1.4.1. Termofilik Arkelerin İzolasyonu

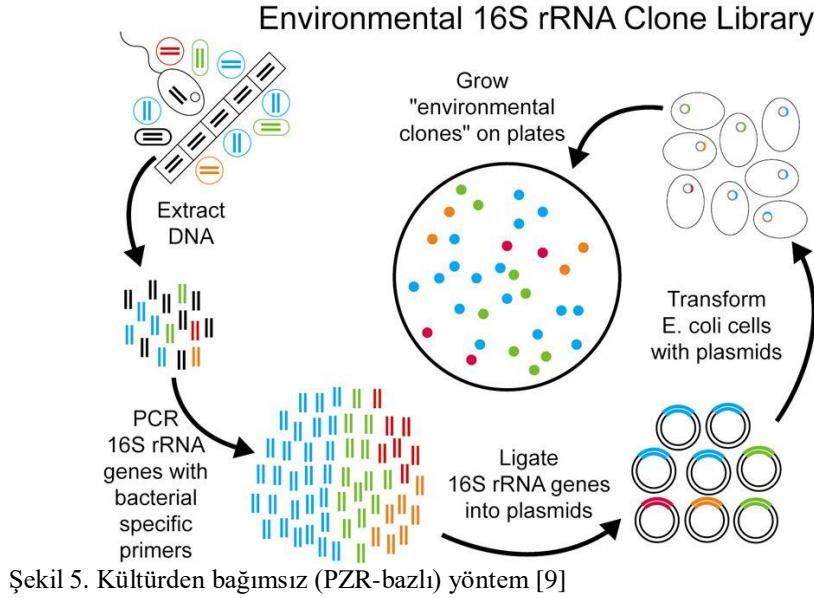
Termofilik ve hipertermofilik arkeler genellikle sıcak su kaynaklarından izole edilmektedirler. Sıcak su kaynakları, dünyanın çok değişik yerlerinde bulunur. Biyologların çoğu 19. yüzyılın ortalarından sonra termal sularda yaşayan organizmalar üzerinde gözlemler yapmışlardır. Dünya üzerindeki sıcak su kaynakları Batı Amerika, Orta Afrika, Yeni Zelanda, İzlanda, Japonya, İtalya, Endonezya, Orta Amerika, Orta Afrika gibi ülkelerin bulunduğu geniş bir alanda bulunur. Ancak, termal habitatlarda yaşayan mikroorganizmalar üzerine kapsamlı çalışmalar uzun yıllar Yellow Stone Ulusal Parkında yapılmıştır. Bu park dünyada termal özelliklere sahip en önemli yerlerden biridir. Termofilik arke çeşitliliği hem mikrobiyolojik kültür temelli hem de moleküler yöntemlere bağlı yaklaşımlar kullanılarak belirlenebilmektedir. Termofilik arkelere özgü kültür ortamı hazırlanarak yapılan mikrobiyolojik temelli yöntemlerle; yüksek sıcaklığa dayanıklı ve bu koşullarda jelleşen yeni nesil katılaştırıcı ajan "gelrite" kullanılarak yapılabilir. Son zamanlarda çalışmalarda yaygın kullanılan yöntem ise kültür ortamından bağımsız olarak yapılan moleküler yöntemlerle PCR-bazlı teknikler kullanılarak termofilik arkelerin tanısını ve karakterizasyonunu gerçekleştirmektir.



Şekil 4. Kültüre bağımlı ve kültürden bağımsız yöntemlerle prokaryotik çeşitliliğinin değerlendirilmesi [9]

#### 1.4.2. Termofilik Arke Çeşitliliğinin Belirlenmesi

Son yirmi yılda, 16S rRNA genlerinin PCR-bazlı amplifikasyonunu içeren moleküler tekniklerin kullanılması, kültürden bağımsız bir mikrobiyal çeşitlilik değerlendirmesine izin vermiştir. Bu tür teknikler ile, okyanus suları, göl suları ve toprak gibi normal habitatlarda çoğunlukla kültürlenmemiş arkelerin geniş bir dağılımı gözlenmiştir. Bu yöntemle, kültüre edilmemiş mikroorganizmalar için filogenetik ağaçlar elde etmek mümkün hale gelmiştir. Buna dayanarak Pace ve arkadaşları ilk olarak 1986'da SSU rRNA'lar için tasarlanan primerleri kullanarak PCR yöntemiyle çevresel araştırmalara başlamışlardır [10].



1.DNA ekstraksiyonu 2.Termofilik arkelere spesifik primerler ile 16S rRNA genlerinin PZR ile amplifikasyonu . 3.16S rRNA genlerinin plazmitlere aktarımı 4. Plazmitlerin E.coli hücrelerine transformasyonu 5.rDNA klonlarının bulunduğu klon kütüphanesi

#### 1.5. Termofilik Arkelerde Yüksek Sıcaklık Adaptasyonu

Termofilik arkeler diğer pek çok mikroorganizmanın hayatlarını sürdüremedikleri yüksek sıcaklıklarda yaşayabilen organizmalardır. Termofilik arkelerin; hücre zarları, enzimleri, nükleik asitleri, proteinleri ve bir takım hücre yapıları yaşayabildikleri yüksek sıcaklıklara dayanabilir yapıdadırlar. Yüksek sıcaklıklarda yaşayabilmeleri için DNA, protein ve hücre membran yapılarında farklı mekanizmalar geliştirerek bir takım yapısal değişikliklere uğramışlardır. Yüksek sıcaklık membranların akışkanlığını artırır. Optimum membran akışkanlığı sağlamak için hücre, lipidlerin miktarını ve türünü (örneğin doymuş ve doymamış) içeren membran bileşimini ayarlamalıdır. Sıcaklık da proteinlerin yapısını ve işlevini etkiler. Proteinlerin yüksek sıcaklıklarla başa çıkmak için geliştirdiği yollar arasında iyon çifti içeriğinin artırılması, hidrojen bağları ve disülfid köprülerinin artırılması ve oda sıcaklığında esnekliğin azaltılması gibi adaptasyonlar bulunmaktadır. Stres faktörlerine maruz kalan birçok biyolojik yapı strese karşı belirli yanıtlar ve bazı maddeler oluşturur. Bu maddelerin başında ise stres proteinleri olarak da adlandırılan ısı şok proteinleri (Hsps) gelir. Bu bilgiler ışığında termofillerde ısı şok protein içeriğinin arttığı da belirlenmiştir. Ayrıca termofiller ve hipertermofiller tarafından üretilen proteinler, mezofilik proteinlere göre denatürasyona karşı daha dirençlidir. Bununla birlikte sadece hipertermofillerde bulunduğu düşünülen özel bir protein sayesinde DNA'nın degrade olmaması söz konusudur. Tüm hipertermofiller ters DNA giraz olarak adlandırılan bir DNA topoizomeraz üretirler [11][12][13].

Arke ve bakterilerin termostabilitesini anlamak için, membran kompozisyonları üzerinde yoğunlaşmak gerekir. Arkelerin hücre zarı genellikle eter-bağlardan oluşurken bakteriyel hücre zarı ester-bağlarından oluşmaktadır. Eter-bağları gliserol ve hidrokarbonlar arasında olurken, ester bağları yağ asitleri ve gliserol arasında olur. Arkelerin hücre membranı, kimyasal ve termodinamik olarak bakteri hücre zarından daha stabildir.

#### 1.6. Oksijen İlişkileri Açısından Termofilik Arkeler

Termofilik arkeler genel olarak zorunlu veya fakültatif anaerobiktirler. Pekçok hipertermofil ise, kemoototroftur. Tek karbon kaynağı olarak CO<sub>2</sub>'yi ve enerji kaynağı olarak inorganik redoks reaksiyonlarını kullanırlar. Ayrıca, tüm hipertermofiller ve birçok termofil türü fotosentetik yerine kemosentetik, güneş enerjisini kullanmak yerine çözünmüş organik ve inorganik bileşiklerin oksidasyonu veya bu bileşikleri tüketerek enerji üretir.

Bununla birlikte, kültürdeki termofillerin ve hipertermofillerin çoğu, kükürt redoks sistemindeki türler arasında elektron transferinden faydalanır. Bazı hipertermofilik arkeler ise metan üretirler. (Tablo 1).

Tablo 1 Termofilik ve hipertermofilik arkelerin metabolik özellikleri ve taksonomileri

Tür	Maksimum Sıcaklık (°C)	Heterotrof /Ototrof	Aerobik/Anaerobik
<i>Methanobacteriumthermophilum</i>	65	A	AN
<i>Methanococcus thermolithotrophicus</i>	70	A	AN
<i>Methanoculleus thermophilicum</i>	60	H	AN
<i>Methanosarcina thermophila</i>	50	H	AN
<i>Palaecoccus ferrophilus</i>	88	H	AN
<i>Picrophilus ashimae</i>	65	H	AN
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	80	FA	FAN
<i>Sulfurococcus mirabilis</i>	86	FA	AE
<i>Thermocladum modestius</i>	82	H	FAN
<i>Thermococcus zilligii</i>	85	H	AN
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	63	H	FAN

## 2. Biyoteknoloji uygulamalarında arkelerin kullanımı

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Çünkü mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvan kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olması, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleri gibi avantajları vardır. Arkelerin birçoğunun ekstrem koşullarda büyümesinden dolayı, bu organizmalardan izole edilen enzimlerin, pratik uygulamalarda kullanıldığında büyük avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir. Arkelerin kullanıldığı alanlardan biri de metanojenlerin esas olarak metandan oluşan biyogaz ürettikleri kanalizasyon işlemleridir. Ek olarak termofilik arkeler, *Metallosphaera sedula* gibi termoasidofilik organizmaların katı sülfid minerallerine bağlandığı ve sonuçta altın ve bakır gibi metallerin salınmasıyla oksitlendiği düşük dereceli cevherlerin elde edilmesinde (Biomining) de kullanılmaktadır [14].

### 2.1. Arkeal Ekstremozimlerin Biyoteknoloji Uygulamalarında Kullanımları

Enzim üretiminde kullanılan mikroorganizmalar sadece enzim üretme yeteneklerine göre değil, toksik ve patojen olmamalarına göre de seçilmektedir. Özellikle son yıllarda stratejik alan şeklinde değerlendirilen rekombinant DNA teknolojilerinden yararlanılarak enzim üretimi büyük boyutlara ulaşmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmıştır [15]. Günümüzde, endüstriyel olarak önemli birçok kimyasal proses, yüksek sıcaklık ve basınç gibi sert koşullarda gerçekleştiğinden, bunlara alternatif ve çevresel etkisi daha az yöntemler için ekstrem koşullara dayanıklı enzimlere gerek duyulmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre endüstriyel enzimlerin büyük çoğunluğu mezofilik mikroorganizmalardan sağlanmakta, ancak birçok avantaja sahip olmalarına karşın, uygulamalara dayanıksız olmaları nedeni ile kullanımları sınırlı kalmaktadır.[16] Öte yandan, ekstrem termofil mikroorganizmalardan elde edilen enzimler (ekstremozimler) ekstrem koşullara daha dayanıklı olduklarından, enzim üretimi için önemlidirler.

Arkelerin sıcaklık, tuzluluk ve pH sınırlarında işlev gösterme kabiliyetlerinin bir sonucu olarak, termofilik arkelerin ekstremofilik enzimleri veya ekstremozimleri birçok uygulamada kullanım alanı bulmaktadır ve çeşitli biyoteknolojik çalışmalarda kullanım için düşünülebilmektedir. Isıya dayanıklı ekstremozimler, 50°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda en uygun şekilde büyüyen termofillerden veya 80° C'nin üzerindeki optimum büyüme sıcaklıkları ile hipertermofillerden elde edilebilmektedirler. Ticari olarak kullanılan enzimlerin %59'unu proteazlar, %28'ini karbohidrazlar, %3'ünü lipazlar ve %10'unu ise diğer enzimler oluşturmaktadır. Termofilik ve hipertermofilik arkelerden elde edilen ekstremozimler ise; Glikozil hidrolazlar, Proteazlar, DNA ilişkili enzimler olarak sınıflandırılabilir [17][18].

### 2.1.1. Glikozil Hidrolazlar

Bugüne kadar, termofilik ve hipertermofilik arkelerden çok sayıda  $\alpha$  ve  $\beta$  glikozil hidrolaz karakterize edilmiştir. Glikozil hidrolazlar, iki veya daha fazla karbonhidrat arasında veya karbonhidrat ile karbonhidrat olmayan kısımlar arasında glikozidik bağları hidrolize edebilen enzimler olarak tanımlanmaktadır. Her ne kadar glikozil hidrolazlar 85 familya arasında bölünse de bu enzimleri nişasta, ksilan veya selülozu hidroliz etme yeteneklerine göre;  $\alpha$ -1,4- ve  $\alpha$ -1,6-glikozidik bağlar (nişasta),  $\beta$ -1, 4-glikosidik bağlar (ksilan ve selüloz) içeren polimerler olarak gruplandırmak uygundur [17].

#### Nişasta Parçalayıcı Enzimler

$\alpha$ -amilazlar nişastadaki  $\alpha$  -1,4 glikozidik bağları rasgele hidrolize ederek glukoz ve oligosakaritleri meydana getirir. Buna örnek olarak hipertermofilik arke türleri olan *Pyrococcus woesei* ve *P. furiosus*  $\alpha$ -amilazların 100°C sıcaklıkta en çok bilinen termofilik versiyonlarıdır. *Thermococcus profundus* DT5432'nin saflaştırıldığında 80°C optimum bir sıcaklığa sahip olan amilaz S gibi termostabil  $\alpha$ -amilazlar ürettiği saptanmıştır. Termofilik ve hipertermofilik arkelerden izole edilen pullulanazlar ise, dallanmış polimerlerde hem  $\alpha$ -1,4 hem de  $\alpha$ -1,6 glikozidik bağları hidrolize edebilen tip II sınıfına aittir. Bu gruba dahil olan bir diğer enzim  $\alpha$ -glukozidazlar, terminal glikoz kalıntılarını hidrolize eden glikojen yıkımının son aşamasında yer alır. Bu enzim, 105°C ve 115°C arasında en iyi şekilde çalışır. Termozim olarak da adlandırılan termofiliklerin enzimleri, optik nanosensörler ve analitlerin oluşturulmasında kullanılmaktadır [29]. Bunun yanısıra kâğıt endüstrisinde, süt endüstrisinde, boyalı ürünlerin işlenmesinde, deri endüstrisinde ve farmasötiklerde de kullanılmaktadır [19].

#### Ksilan Parçalayıcı Enzimler

Ksilanlar,  $\beta$ -1,4 bağlantılı D-xylopyranosyl alt birimlerinden oluşan bir ana zincire dayanan heterojen polisakkarid grubudur. Termostabil ksilanazlar, enzim destekli kâğıt ağartmasında kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak meyve-sebze suları ve şarabın arıtılmasında, peynir olgunlaşması, hamur fermantasyonu gibi işlemlerde de rol oynamaktadır [19].

Tablo 2 Termofilik ve hipertermofilik arkelerin nişasta parçalayıcı enzimleri [17]

Organizma	Enzim	T <sub>optimal</sub>	pH <sub>optimal</sub>
<i>D.mucosus</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.5
<i>P.furiosus</i>	$\alpha$ -amilaz	100	6.5-7.5
<i>Pyrococcus sp. KOD1</i>	pullulanaz type II	90	6.5
<i>P.woesei</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.5
<i>Pyrodictium abyssi</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.0
<i>St.marinus</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.0
<i>S.solfaraticus</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.0
<i>S.solfaraticus MT-4</i>	glikoamilaz	70	4.5
<i>T.hydrothermalis</i>	pullulanaz type II	95	5.5
<i>T.litoralis</i>	pullulanaz type II	98	5.5
<i>T.profundus DT5432</i>	$\alpha$ -amilaz (amilaz S)	80	5.5-6.0
<i>Thermococcus strain AN-1</i>	$\alpha$ -glikozidaz	75	7.0
<i>Thermococcus strain TY</i>	$\alpha$ -amilaz	100	5.5
<i>Thermococcus strain TYS</i>	pullulanaz type II	100	6.5

### 2.1.2. Proteazlar

Proteazlar, proteinlerin yapısındaki peptid bağlarının hidrolitik parçalanmasını katalize eden enzimlerdir. Dünya çapında ticari ölçekte üretilen proteazlara, diğer enzimlere göre biyoteknolojik uygulamalarda daha fazla yer verilmektedir. Bu nedenle, ısıya dayanıklı arkeal proteazların izolasyonu ve karakterizasyonu büyük ilgi odağıdır. Proteaz enzimlerinin, diğer enzimlere göre yıllık olarak tüketilen oranları tablo 3'te verilmiştir [20][21].



Tablo 3 Mikrobiyal enzimlerin yıllık kullanım değerleri

Enzim	Pazar Payı (%)
Alkali Proteazlar	25
Diğer Proteazlar	21
Amilaz	18
Reninler	10
Analitik Enzimler	10
Karbohidrolazlar	10
Lipaz	3
Tripsin	3

Proteazlar, katalize ettikleri reaksiyon tipine göre ekzopeptidazlar ve endopeptidazlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu tanımlamada belirleyici olan enzimlerin substratta etkili oldukları bölgedir. Çoğunlukla serin proteaz tipinde olan termofilik ve hipertermofilik arkelere ait çeşitli proteolitik enzimler tanımlanmıştır. Bu enzimler katalitik aktivitelerini sadece yüksek sıcaklıklarda değil, aynı zamanda deterjan veya diğer denatüre edici ajanların varlığında da gösterirler [22][17].

Tablo 4 Termofilik ve Hipertermofilik Arkelerin Proteaz Enzimleri [17]

Organizma	Tip	T <sub>optimal</sub>	pH <sub>optimal</sub>
<i>A.pernix</i> K1	Serin proteaz (pernilaz)	90	6.5-10.5
<i>Desulfurococcus</i> strain Tok <sub>12</sub> S <sub>1</sub>	Serin proteaz	95	7.5
<i>Desulfurococcus</i> strain SY	Serin proteaz	85	7.5
<i>Py.aerophilum</i>	Serin proteaz (aerolizin)	85-90	7.5
<i>P.furiosus</i>	Serin proteaz (prolizin)	110	6.3
<i>Pyrococcus</i> sp. KOD1	Thiol proteaz	90	7.0
<i>St.marinus</i>	Serin proteaz	90	9.0
<i>S.solfaraticus</i>	Karboksi peptidaz	85	6.5-8.0
<i>S.acidocaldarius</i>	Asidik proteaz	90	2.0
<i>T.litoralis</i>	Serin proteaz	85	9.5
<i>T.aggregans</i>	Serin proteaz	95	7.0
<i>T.celer</i>	Serin proteaz	95	8.5
<i>T.stetteri</i>	Serin proteaz	85	9.5

Proteazlar endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarda, örneğin kozmetik ve farmasötik sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır.

### 2.1.3. DNA İlişkili Enzimler

Son 40 yılda moleküler biyolojideki en önemli gelişmelerden biri, polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) gelişmesidir. Termotabil DNA polimerazlar çeşitli moleküler biyolojik uygulamalarda büyük rol oynarlar. *Pyrococcus* (*Pfu*) veya *Thermus* (*Taq*) cinsi prokaryotlardan elde edilen arkeal polimerazlar moleküler uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Hipertermofilik arke olan *Thermococcus kodakaraensis* KOD1'den DNA polimeraz enzimi üretilmiştir. KOD DNA polimeraz PCR'da bilinen en yüksek uzatma ve doğruluk oranını, göstermiştir [22].

Tablo 5 KOD DNA polimeraz, *Pfu* DNA polimeraz ve *Taq* DNA polimeraz karşılaştırması [23]

Enzim	KOD DNA Polimeraz	<i>Pfu</i> DNA Polimeraz	<i>Taq</i> DNA Polimeraz
Tür	<i>Thermococcus kodakaraensis</i>	<i>Pyrococcus furiosus</i>	<i>Thermus aquaticus</i> YT-1
Doğruluk	0.0035	0.0039	0.013
Uzama Oranı	106-138	25	61

DNA polimerazlara ek olarak, hipertermofilik arkeler diğer DNA modifiye edici enzimlerin de kaynağıdır. *T. acidophilum*'dan elde edilen termoaktif polimeraz (Thermo Sequenase) ve termostabil pirofosfatase kombinasyonunun kullanılması, daha uzun ve daha doğru dizi okumalarının belirlenmesini sağlar [23].

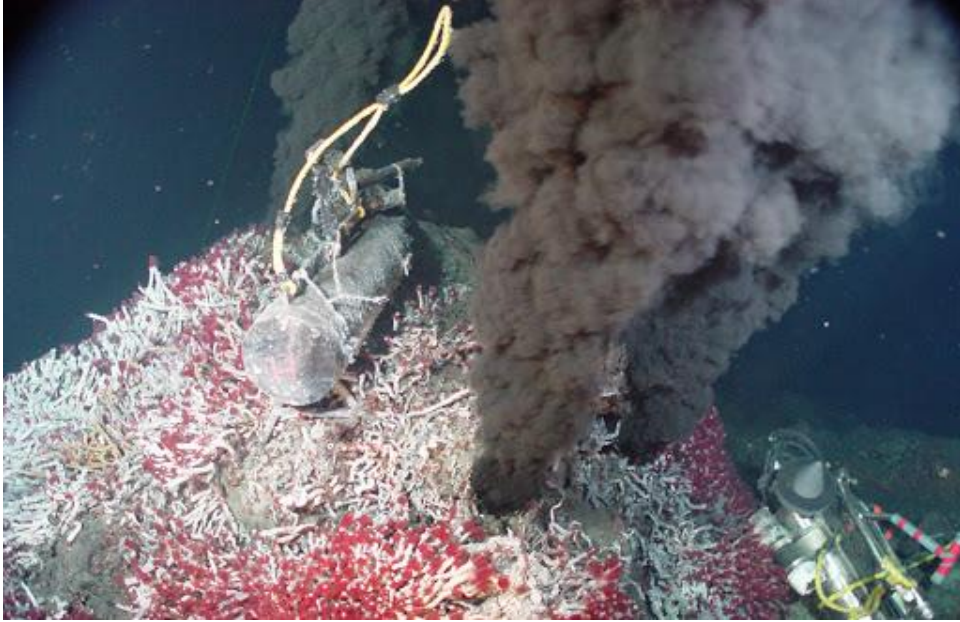
### 3. Sonuçlar ve tartışma

2006'da Karl O. Stetter [5] yayınladığı araştırmada; Woese ve Zillig'in arkelerle ilgili yaptıkları çalışmalardan yola çıkarak hipertermofilik türler üzerine bir araştırma yürütmüştür. 1972'ye kadar en yüksek büyüme sıcaklığına sahip mikroorganizma *Sulfolobus acidocaldarius* idi. 1977'de Carl Woese yaşamın domainlerine Arke'yi eklediğinde bu türün arke domainine ait olan bir hipertermofilik organizma olduğu ortaya çıkmıştır. Stetter, Kerlingarfjöll dağındaki kaynar su ve çamur örnekleri ile çubuk şekilli bir metanojen olan *Methanothermus fervidus*'u izole etmiştir. Bu organizma 97 °C'ye kadar bir sıcaklıkta büyümüş ve 82 ° C'de en hızlı (optimal) büyümesini sergilemiştir. *Sulfolobus acidocaldarius*'tan çok daha yüksek sıcaklıklarda hayatta kalabilmiştir. Bunun yanı sıra Stetter ve Zillig 1981<sup>(21)</sup> 'de anaerobik *Thermoproteals*'in ilk üyelerini izole etmişlerdir. *Methanothermus*'a benzer şekilde, *Thermoproteales* 97 C'ye kadar büyüme sıcaklığı sergilemiş ve 65 C veya daha düşük sıcaklıkta büyümüşdür. Bunu takiben 1981'de Vulcano Adası'ndaki (İtalya) 100 ° C'nin üzerindeki sıcaklıkta Porto di Levante'deki sıcak deniz tabanında yer alan bir denizaltı solfatarik alanından örnekler almıştır. İzole edilen örneklerden belirlenen mikroorganizmalar 100 ° C'nin üzerinde gelişim göstermişlerdir.



Şekil 6. Porto di'deki denizaltı hidrotermal deliklerinden numune alınan Levante, Vulcano, İtalya [5]

Böylece Stetter, Vulcano'ya adapte olmuş ilkel yaşam tarzlarına dayanarak, benzer hipertermofilik organizmaların 3,9 milyon yıl önceden beri Dünyada var olabileceği hipotezini gündeme getirmiştir. Buna dayanarak bu heyecan verici hipertermofillerin daha fazlasını bulmak için, son 25 yıl boyunca dünyanın her yerindeki yüksek sıcaklık alanlarını ziyaret etmiş ve oradan yüksek sıcaklık organizmalarını izole etmiştir.



Şekil 7. Hidrotermal bacalar

Muhteşem denizaltı bacaları ile derin deniz hidrotermal bacaları dahil bu sitelerin birçoğunu ziyaret etmiştir. Buna ek olarak, derin yeraltı (volkanik olmayan) jeotermal olarak ısıtılan petrol taşıyan kumtaşı ve kireçtaşı içinde, Kuzey Denizi'nin tabanından ve Alaska Kuzey yamaç permafrostunun yüzeyinin yaklaşık 3.500 m altında in situ sıcaklıklara sahip hipertermofilik toplulukları keşfetmiştir. Stetter laboratuvarında bu türlerle birlikte 50 yeni farklı hipertermofilik tür izole etmiş ve tanımlamıştır.

Arkelerin ekstrem ortamlarda hayatta kalabilme kabiliyetlerinin varlığı çeşitli enzimlerin biyoteknoloji alanında kullanımında yararlar sağlamaktadır. Çoğunlukla, sadece arkeal toplulukların varlığı önemli bir ekonomik değer taşımaktadır. Metanojenik arkeler, temiz ve ucuz enerji kaynağı kapasitelerine sahipken, asidofilik arkeler, mineral-sülfür oksitleyici yeteneklerinin jeokimyasal sülfür döngüsünde önemli bir rol oynadığı çeşitli asit maden drenaj sahalarında tanımlanmıştır. Her ne kadar arkelerle ilgili çeşitli ürünler önemli ticari değer taşıyorsa da, biyoteknolojik olarak yararlı arkeal enzimler endüstriyel ilginin ana odağını temsil etmektedir [5].

2017'de Kelly Dumorné [19] ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmada arkeal ekstremozimlerin endüstriyel uygulamalardaki öneminden bahsedilmektedir. Çalışmada; termofilik proteinler, piezofilik proteinler, asidofilik proteinler ve halofilik proteinlerin biyoteknolojik ve endüstriyel uygulamaları için daha fazla dikkat çektiği vurgulanmaktadır. Son yıllarda, özellikle ekstremofillerden gelen enzimler ve birçok süreçte enzimlerin önemi araştırılmıştır. Çoğunluğun biyoteknolojik ve endüstriyel uygulamalar için kullanıldığı çok sayıda enzim tanımlanmıştır (3.000'den fazla), ancak enzim pazarı hala endüstri taleplerine cevap vermek için yetersizdir. Bu durumun temel nedeni, birçoğunun endüstriyel koşullara dayanmamasıdır. Ayrıca, enzimler ekolojik süreçleri kullanan teknolojilerde kullanılmaktadır. Endüstriyel işlem, yüksek tekrarlanabilirlik ve diğer parametrelerle pH, sıcaklık ve havalandırmanın farklı koşullarına dayanabilen biyokatalizörlere ihtiyaç duyar. Ekstremofilik mikroorganizmalar, biyolojik olarak bozunabilirlikleri ve aşırı kararlılıkları nedeniyle çok çeşitli endüstriyel uygulamalara sahip ekstremozimlerin kaynağıdır.

Bunun yanı sıra mikrobiyal çeşitlilik çalışmalarında son yıllarda arkeler önemli bir rol oynamaktadır. Mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan kültürden bağımsız yöntemlerle pek çok farklı molekül (DNA, RNA vb) ve /veya yaklaşım seçilebilmektedir. Farklı habitatların prokaryotik çeşitlilikleri hem mikrobiyolojik kültür temelli hem de moleküler yöntemlere bağlı yaklaşımlar kullanılarak belirlenebilmektedir. Kültür temelli yöntemlerin kullanılabilmesi mikrobiyal canlılığa bağlı olduğu için ekstrem koşullarda hayatta kalmaya adapte arke türlerini laboratuvar koşullarında canlı tutmak her zaman mümkün olmamaktadır. Pace ve arkadaşları ilk olarak 1986'da ssurRNA'lar için tasarlanan primerleri kullanarak PCR yöntemiyle çevresel araştırmalara başlamışlardır (Pace ve ark., 1986). Doksanlı yıllardan itibaren kullanılmaya başlanan PCR-bazlı ve örneklerden direkt 16S *rDNA* ların çoğaltıldığı moleküler yöntemler sayesinde çeşitli habitatlardaki bakteri ve arkeleri (eğer önceden tanıları yapılmış ve veri tabanına girilmişse) genus/tür bazında tespit etmek mümkündür. Ekstrem çevrelerdeki arkeal çeşitliliğin belirlenmesi için yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur.

2010'da Malkawı tarafından yürütülen çalışmada Ürdün kaplıca sularında bakteri ve arke çeşitliliği kültürden bağımsız olarak tespit edilmiştir. Farklı kaynaklardan 5 örnekte termofilik ve hipertermofilik arke türlerine rastlanmıştır [24]. 2014'te Budakoğlu ve ark. Acıgöl'ün Archaeal mikrobiyal çeşitliliği çalışmasına göre; TA klonlama yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada toplamda 50 koloni seçilmiş ve sekanslanan mikroorganizmaların tümünün Halofilik mikroorganizmalara ait olduğu belirlenmiştir [25].

2016'da Çınar ve arkadaşları Doğu Anadolu bölgesinde (Sivas, Erzincan, Bingöl) bulunan 4 farklı tuzlada prokaryotik çeşitlilik analizi gerçekleştirmişlerdir. Genellikle halofilik arkeler tespit edilirken bunun yanı sıra halotolerant mikroorganizmalara da rastlanmıştır [26].

2017'de Pektaş ve Temel'in gerçekleştirdiği çalışmada Denizli'de bir sülfidik mağara olan Kaklık mağarasından alınan örneklerde mikrobiyal çeşitlilik araştırılmıştır. Çalışmada 16S *rRNA* geni için pyrosequencing tekniği kullanılmıştır. Toplamda 3 arkeal filum ve 25 bakteriyal filum tespit edilmiş ve arke sekansları içerisinde *Thermoplasmata* tüm örneklem alanlarında en bol bulunan grup olarak belirtilmiştir [27].

2018'de Güven ve arkadaşları Türkiye'nin ekstrem çevrelerinden alınan kaynaklarda termofilik ve halofilik mikroorganizmaların izolasyonu ve tanımlanmasını amaçlamışlardır. İncelenen termofilik bakteriler; *Anoxybacillus*, *Geobacillus*, *Bacillus*, *Brevibacillus* ve Bacillaceae familyasına ait *Aeribacillus* ve *Thermus* ve *Thermomonas* gibi termofillerdir. Halofilik mikroorganizmaların ise genelini arkeler oluşturmuştur [28].

Sonuç olarak bu derlemede ekstrem çevrelere uyum sağlayan arkelerin biyoçeşitliliğine ve bu mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin endüstriyel uygulamalarına odaklanılmıştır. Dünyada ve ülkemizde özellikle termofilik/hipertermofilik arkeal çeşitlilik çalışmaları sınırlı sayıda ve gelecekte bu mikroorganizmalara odaklanılmasında derlememiz aydınlatıcı bir nitelik taşımaktadır. Ek olarak ekstrem koşullarda iş görebilen, endüstride zorlayıcı koşullarda mezofilik enzimlerine göre üstünlük sağlayan termofilik arkelerin enzimlerinin araştırılması biyoteknolojide öncelikli bir hedef olmaya devam etmektedir.

## Kaynaklar

- [1] Lever, M. A., Teske, A. P. (2015). Diversity of methane-cycling archaea in hydrothermal sediment investigated by general and group-specific PCR primers. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(4), 1426-1441.
- [2] Garrett, R.A., Klenk, H. P. (2007). Archaea: evolution, physiology, and molecular biology. *Blackwell Publishing, Oxford*, United Kingdom.
- [3] Spang, A., Caceres, E. F., Erttema, T. J. G. (2017). Genomic exploration of the diversity, ecology, and evolution of the archaeal domain of life. *Science*, 357, (6351).
- [4] Aslan, Z. (2019). Termal kaynaklardan izole edilen bakterilerin enzimleri üzerine çalışmalar (Master's thesis).
- [5] Stetter, K. O. (2006). History of discovery of the first hyperthermophiles. *Extremophiles*, 10(5), 357-362.
- [6] Merkel, A. Y., Podosokorskaya, O. A., Chernyh, N. A., Bonch-Osmolovskaya, E. A. (2015). Occurrence, diversity, and abundance of methanogenic archaea in terrestrial hot springs of Kamchatka and Saõ Miguel Island. *Microbiology*, 84(4), 577-583.
- [7] Barahona, S., Cortés, J., Hengst, M., Dorador, C., Remonsellez, F. (2017). Diversity of Thermophilic Iron-Pyrite-Oxidizing Enrichments from Solfataric Hot Springs in the Chilean Altiplano. *In Solid State Phenomena*, 262, 526-530.
- [8] Moore, T.A. (2012). Coalbed methane: A review. *International Journal Of Coal Geology*, 101, 36-81.
- [9] Lebeis, S. L. (2014). The potential for give and take in plant-microbiome relationships. *Frontiers In Plant Science*, 5, 287.
- [10] Pace, N. R., Stahl, D. A., Lane, D. J., Olsen, G. J. (1986). The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *In Advances In Microbial Ecology*, 1-55.
- [11] Aouad, M., Taib, N., Oudart, A., Lecocq, M., Gouy, M., Brochier-Armanet, C. (2018). Extreme halophilic archaea derive from two distinct methanogen Class II lineages. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127, 46-54.
- [12] Guzzo, J. (2012). Biotechnical applications of small heat shock proteins from bacteria. *International Journal Of Biochemistry Cell Biology*, 44 (10), 1698-1705.
- [13] Silva, S. B., Pinheiro, M. P., Fuzo, C. A., Silva, S. R., Ferreira, T. L., Lourenzoni, M. R., Ward, R. J. (2017). The role of local residue environmental changes in thermostable mutants of the GH11 xylanase from *Bacillus subtilis*. *International journal of biological macromolecules*, 97, 574-584.
- [14] Norris, P. R., Burton, N. P., Foulis, N. A. (2000). Acidophiles in bioreactor mineral processing. *Extremophiles*, 4(2), 71-76.
- [15] Wiseman, A., Dalton, H. (1987). Enzymes versus enzyme-mimetic systems for biotechnological applications. *Trends In Biotechnology*, 5(9), 241-244.
- [16] Schocke, L., Bräsen, C., Siebers, B. (2019). Thermoacidophilic *Sulfolobus* species as source for extremozymes and as novel archaeal platform organisms. *Current Opinion In Biotechnology*, 59, 71-77.
- [17] Cabrera, M. Á., Blamey, J. M. (2018). Biotechnological applications of archaeal enzymes from extreme environments. *Biological Research*, 51.
- [18] Amoozegar, M. A., Siroosi, M., Atashgahi, S., Smidt, H., Ventosa, A. (2017). Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. *Microbiology*, 163(5), 623-645.
- [19] Herrero-Fresno, A., Espinel, I. C., Spiegelhauer, M. R., Guerra, P. R., Andersen, K. W., Olsen, J. E. (2018). The homolog of the gene *bstA* of the BTP1 phage from *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ST313 is an antivirulence gene in *Salmonella enterica* serovar Dublin. *Infection and Immunity*, 86(1).

- [20] Chakdar, H., Kumar, M., Pandiyan, K., Singh, A., Nanjappan, K., Kashyap, P. L., Srivastava, A. K. (2016). Bacterial xylanases: biology to biotechnology. *3 Biotech*, 6(2), 150.
- [21] Szilágyi, A., Závodszy, P. (2000). Structural differences between mesophilic, moderately thermophilic and extremely thermophilic protein subunits: results of a comprehensive survey. *Structure*, 8(5), 493-504.
- [22] Leigh, J. A., Albers, S. V., Atomi, H., Allers, T. (2011). Model organisms for genetics in the domain Archaea: Methanogens, halophiles, Thermococcales and Sulfolobales. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 577–608.
- [23] Takagi, M. (1997). Characterization of DNA polymerase from *Pyrococcus* sp. strain KOD1 and its application to PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4504–4510.
- [24] Malkawi, H. I., Al-Omari, M. N. (2010). Culture-dependent and culture-independent approaches to study the bacterial and archaeal diversity from Jordanian hot springs. *African Journal of Microbiology Research*, 4(10), 923-932.
- [25] Budakoglu, M., Kurt, H., Karaman, M., Kumru, M., Kumral, M., Akarsubaşı, A. T. (2014). Archaeal microbial diversity of hypersaline Lake Acıgöl, Denizli, Turkey. *Geomicrobiology Journal*, 31(6), 454-460.
- [26] Çınar, S., Mutlu, M. B. (2016). Comparative analysis of prokaryotic diversity in solar salterns in eastern Anatolia (Turkey). *Extremophiles*, 20(5), 589–601.
- [27] Gulecal-Pektas, Y., Temel, M. (2017). A Window to the subsurface: Microbial diversity in hot springs of a sulfidic cave (Kaklık, Turkey). *Geomicrobiology Journal*, 34(4), 374-384.
- [28] Guven, K., Bekler, F. M., Guven, R. G. (2018). Thermophilic and Halophilic Microorganisms Isolated from Extreme Environments of Turkey with Potential Biotechnological Applications. In *Extremophiles In Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications*, 219-264.
- [29] Yücelşengün, İ., Gargı, A. (2020). Comparative Study of Total Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Extracts of *Corchorus olitorius* L. Growing in North Cyprus. *Biological Diversity and Conservation*, 13(3), 298-304.



### Plant-derived vaccines

Aybüke OKAY<sup>1</sup>, Semra AYDIN<sup>\*1</sup>, İlker BÜYÜK<sup>2</sup>, Emine Sümer ARAS<sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0002-6772-4316; 0000-0002-1670-9677; 0000-0002-0843-8299; 0000-0003-3474-9493

<sup>1</sup>Hacettepe University, Vaccine Institute, 06100 Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Ankara, Turkey

#### Abstract

Plants are platforms where recombinant proteins and other biopharmaceuticals can be produced easily, cheaply and safely and can be purified back. Recently, many recombinant proteins such as growth hormone, antibody milk proteins, serum albumin and various industrial enzymes produced in bacterial or mammalian cell cultures have been produced in plant tissue or in plant cell culture. Plant tissues provide suitable post-translational modifications for production of recombinant viral and bacterial antigens and show the same biological activity as the recombinant vaccines produced in microorganisms. All of these have paved the way for their usage in vaccine production. Production of recombinant protein in plants requires stable or transient integration of target gene sequence depending on the location in the plant cell. While the biolistic method is used for the stable transformation of the target gene in the nucleus or chloroplast, plant pathogen *Agrobacterium* sp. mediated gene transfer method is used for transient gene transfer. Plant system are extremely suitable expression vectors for industrial production of pharmaceutical proteins, with their proven production capacity and economic feasibility.

**Keywords:** plant derived vaccines, genetic modification, plant biotechnology

----- \* -----

### Bitkisel türevli aşılar

#### Özet

Bitkiler, rekombinant proteinlerin ve diğer biyofarmasötiklerin kolay, ucuz ve güvenli üretiminin sağlanabildiği ve geri saflaştırılabildiği platformlardır. Günümüzde bakteri ya da memeli hücre kültürlerinde üretilen büyüme hormonu, antikor süt proteinleri, serum albumini ve çeşitli endüstriyel enzimler gibi birçok rekombinant proteinin bitkisel dokuda ya da bitki hücre kültüründe üretimi gerçekleştirilmiştir. Bitkisel dokuların rekombinant viral ve bakteriyel antijenlerin üretimleri için uygun post-translasyonel modifikasyonları sağlamaları ve mikroorganizmalarda üretilen rekombinant aşilar ile aynı biyolojik aktiviteyi göstermeleri, aşı üretiminde kullanılmalarının önünü açmıştır. Bitkisel rekombinant protein üretimi, hedef gen dizisinin bitki hücresindeki konumuna bağlı olarak stabil veya geçici entegrasyonunu gerektirir. Biyolistik yöntemi, hedef genin çekirdek veya kloroplasta stabil transformasyonu için kullanılırken, bir bitki patojeni olan *Agrobacterium* sp. aracılı gen transferi yöntemi, geçici ve stabil gen transferi için kullanılmaktadır. Bitkisel sistemler kanıtlanmış üretim kapasiteleri ve ekonomik fizibiliteleri ile farmasötik proteinlerin endüstriyel boyutta üretimleri için son derece uygun ekspresyon vektörleridir.

**Anahtar kelimeler:** bitkisel aşilar, genetik modifikasyon, bitki biyoteknolojisi



## 1. Giriş

Aşı, bir hastalığa karşı spesifik koruma sağlamak amacıyla hazırlanmış immuno-biyolojik bir materyaldir ve hastalıklara karşı immünizasyon sağlayarak morbidite ve mortaliteyi azaltmak amacıyla kullanılır. Çocuk ve genç yetişkin ölümlerine sebep olan çiçek hastalığı, tüberküloz, zatürre, kızamık, kızamıkçık, hepatit A-B, menenjit, grip, difteri, boğmaca ve tifo gibi bulaşıcı hastalıkların eradikasyonunda aşılamanın büyük rolü bulunmaktadır [1]. Dünya genelinde uygulanan yaygın aşılamaya çalışmaları çocuk felci (poliomyelit) vakalarının azalmasını sağlamış, ülkemizde de doğru aşılamaya politikaları sayesinde Sağlık Bakanlığı verilerine göre son 19 yılda çocuk felci vakasına rastlanmamıştır. Doğru aşılamaya politikalarının uygulanmasıyla birlikte ülkemizde son 16 yılda sadece tek difteri ve buna bağlı ölüm vakası tespit edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü 2016 verilerine göre aşı kararsızlığı/reddi kavramının ortaya çıkmasıyla birlikte kızamık vaka sayılarının arttığı bildirilmiştir. 2017 yılında Türkiye’de 25 tetanoz vakası gözlenmiş ve bu vakaların tamamının aşısız olduğu anlaşılmıştır. Bu sonuçlar etkin ve kapsayıcı aşılamaya çalışmaları ile hastalıkların görülme sıklığının oldukça azalabildiğini bir kez daha göstermiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarına göre aşılamaya ille yılda 2,5 milyondan fazla yaşam kurtarılmaktadır [2]. 18. yüzyılda başlayan aşı üretimi, sonrasında kapsamlı mikrobiyolojik ve immünolojik çalışmalar, klinik araştırmalar, sterilizasyon ve güvenlik standartlarının düzenlenmesiyle giderek şekillenmiş ve aşı bilimi gün geçtikçe değerlendirilmiş ve gelişmiştir. Günümüzde aşı üretimi, ürün kalitesinin yaşamsal öneme sahip olduğu ve sürekli olarak istenilen kalitede ürün üretebilme becerisinin vazgeçilmez olduğu bir endüstridir. Bireylerin sağlığını riske sokmayacak şekilde güvenilir, kaliteli ve etkin aşılardan üretimi zorunluluk arz etmektedir [3]. Farklı şekillerde etki gösteren üç ana aşı tipi bulunmaktadır: Canlı (*zayıflatılmış*) aşılardan, inaktif aşılardan ve alt birim aşılardan (*rekombinant, konjugat, toksoid ve polisakkarit aşılardan*). Canlı aşılardan, vücuda bir hastalığa neden olan mikrop veya virüsün zayıflatılmış bir versiyonu enjekte edilmektedir. Kızamık, kabakulak ve kızamıkçık (MMR kombine aşı), rotavirüs, çiçek hastalığı, suçiçeği ve sarıhumma aşılardan, canlı aşılardan örnek olarak verilebilir [3]. İnaktif aşılardan ise ısı veya kimyasallarla öldürülen bir bakteri veya virüs türünün kullanıldığı aşılardır. Hepatit A, grip, çocuk felci ve kuduz aşılardan inaktif aşılardır. Alt birim, rekombinant, konjugat ve polisakkarit aşılardan ise mikrop veya virüsün belirli kısımlarının kullanılmasıyla elde edilen aşılardır. Vücutta çok güçlü bağışıklık tepkilerini tetikleyebilirler. Hib (*Hemophilus influenza* tip b), hepatit B, insan papilloma virüsü (HPV), boğmaca, pnömokok hastalığı, meningokokal hastalık ve zona aşılardan bu gruba örnek olarak verilebilir [4]. Alt birim aşılardan, bir mikroorganizma veya virüsten oluşturdukları bağışıklık tepkisinin gücüne göre seçilen spesifik antijenler izole edilir. Rekombinant aşılardan, genetik mühendisliği yoluyla üretilmektedir. Konjuge aşılardan, hastalığa neden olacak ya da vücutta bir bağışıklık tepkisi oluşturacak kadar güçlü olmayan bakteri veya virüsten antijenik nitelikte parçalar kullanılmaktadır. Polisakkarit aşılardan, bir bakteri veya virüsün dış kılıfından şeker moleküllerini (polisakkaritler olarak bilinir) kullanılmaktadır. Bu şeker molekülleri kimyasal olarak taşıyıcı proteinlere bağlıdır ve konjuge aşılardan benzer şekilde çalışmaktadır. Toksoid aşılardan ise, bakterinin veya virüsün tamamına değil hastalığa neden olan bakteri veya virüsün belirli kısımlarına karşı bağışıklık oluşturmak için bakteri veya virüs tarafından oluşturulan toksinlerden yararlanılır [5].

### 1.1. Bitkilerde Aşı Üretiminin Tarihi

Bitki genetik mühendisliğinin gelişmesi ile birlikte bilim dünyasına giren transgenik (genetiği değiştirilmiş) bitkiler başlangıçta tarımsal kapasitenin artırılması amacıyla kullanılmışlardır. Ancak son yıllarda farmasötik ve veterinerlik ile ilgili birçok endüstri kolunda büyük ölçekli protein üretiminde kullanılmalarının yaygınlaştığı görülmektedir. Proteinlerin ve diğer biyofarmasötiklerin bitkisel dokularda kolay, ucuz ve güvenli bir şekilde üretilmesi ilaç endüstrisi açısından önemli bir keşiftir. Bitki hücreleri, rekombinant proteinlerin güvenli üretiminin kolaylıkla sağlanabildiği ve kolay bir şekilde geri saflaştırılabildiği, 30 yılı aşkın süredir kullanılan köklü bir teknoloji platformudur. Günümüzde bakteri ya da memeli hücre kültürlerinde üretilen büyüme hormonu, antikor süt proteinleri, serum albumini ve çeşitli endüstriyel enzimler gibi birçok rekombinant proteinin endüstriyel amaçlı bitki dokusunda ya da bitki hücre kültüründe üretimi gerçekleştirilmiştir [6-11]. Ayrıca hali hazırda ticarileştirilmiş birçok enzim ve reaktiflerin üretimlerinde yine bitkisel üretim sistemleri kullanılmaktadır. Örneğin; mısırdan üretilen sığır tripsini (TrypZean Sigma-Aldrich) 2002 yılından beri ticari olarak erişilebilir durumdadır. 2014 yılında ise tütün bitkisinde insan tip I kollajeninin üretimi sağlanmıştır. Çeltikle (*Oryza* sp.) üretilen insan lizozimi ve laktoferrin ise ticarileşmiş diğer ürünlerdendir. İsrail Firması Protalix, tütün ve havuç bitkisinde biyofarmasötiklerin üretimi için çeşitli metotlar geliştirmiş ve söz konusu firmanın Gaucher hastalığının tedavisinde kullanılan bitkisel taligluseraz alfa etken maddesi FDA tarafından ruhsatlanmıştır [6]. Dünyanın daha fakir olan ülkelerinde yetersiz sağlık altyapıları, aşının maliyeti ve soğutma sistemlerinin eksikliğinin aşı kullanımını sınırladığı ve bu durumun söz konusu ülkelerde halen ölümlerin en önemli sebebi olduğu görülmektedir. 1992 yılında bu soruna çözüm bulabilmek amacıyla Dünya Sağlık Örgütü ve bazı gönüllü kuruluşların işbirliği ile kurulan ‘Çocuk Aşı Girişimi (Children’s Vaccine Initiative)’ daha ucuz ve taşıma problemi olmayan aşı üretim teknolojilerinin keşfini ve küresel düzeyde alternatif immünizasyon programlarının oluşturulmasını görev edinmiştir. Bitkisel dokuda üretimin nispeten kolay ve ucuz olması, rekombinant viral ve bakteriyel antijenlerin üretimleri için uygun post-translasyonel modifikasyonları sağlamaları ve mikroorganizmalarda üretilen rekombinant aşılardan ille aynı biyolojik aktiviteyi göstermeleri, bitkisel dokuların aşı üretiminde kullanılma

çalışmalarını teşvik eden önemli gerekçelerdir [7]. Yenilebilir aşı kavramı, transgenik bitkilerin yenilebilir dokularının kullanıldığı alt birim aşılarda için bir üretim sistemi olarak tasarlanmıştır. Yapılan çalışmalarda bitkisel kökenli bir aşının insanlarda güvenli bir şekilde, bağışıklık tepkisi oluşturabileceği gösterilmiştir. Özellikle aşya erişimde maliyeti artıran soğuk zincir koşullarının gerekliliğini ortadan kaldırması sebebi ile de yenilebilir aşılarda dikkat çekmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda ilk zamanlar, bitkisel ekspresyon sistemlerinin rekombinant protein üretim verimlerinin bakteri ve memeli hücre kültürlerine kıyasla düşük olduğu tespit edilmiştir. *Nicotiana benthamiana* yapraklarından 2 g/kg'a kadar rekombinant antikor verimi sağlanabilirken, memeli hücre kültürlerinde verimin 5-10 g/L'lik olduğu gösterilmiştir [8]. Bu sebeple bitkilerde verimi artırabilmek amacı ile kültür ortamının modifikasyonu vb. çeşitli yöntemler denenmiş, üretilen proteinin, bitki apoplastından hücre bozulması olmaksızın kültür ortamına salınımı ve saflaştırılması sağlanmıştır. Bitki çekirdek ve kloroplast dokusunda eksprese edilen antijenik proteinlerin deney hayvanlarında bağışıklık yanıtı oluşturduğu çeşitli araştırmalarda kanıtlanmıştır [9]. Bitkisel türevli Newcastle hastalığı virüsü (NDV) aşısı, 2006 yılında Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'ndan ruhsatlanmıştır. Bitkisel ekspresyon sistemleri, hem beşeri hem de veteriner aşılarda açısından umut vaat etmektedir. Bu sebeplerdir ki son yıllarda, stabil ve geçici transformasyon yöntemleri kullanılarak tütün (*Nicotiana tabacum*), domates (*Solanum lycopersicum*), *Arabidopsis thaliana*, mısır (*Zea mays*), çeltik gibi çok çeşitli bitkilerde antijenik proteinlerin üretimleri konusunda ilerleme kaydedilmektedir. Çeşitli araştırmalarda üretilen rekombinant proteinler Tablo 1 de özetlenmiştir [10-36]. Bu çalışmalar, gelecekte bitki türevi farmasötik proteinlerin, klinik geliştirme aşamasında ve sonrasında ticari pazarda yerlerini alması için umut vaat etmektedir.

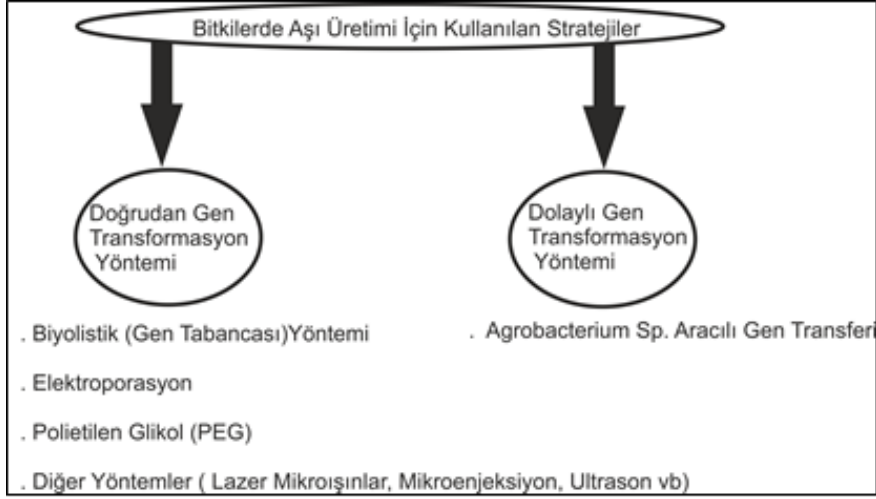
Tablo 1. Bitkisel türevli aşı üretim çalışmaları

Patojen/Hastalık	Bitki	Transformasyon Metodu	
		Metodu	Eferans
Hepatit B virüsü	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[10]
Aktarılabılır gastroenterit virüs (TGEV)	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[11]
Rinderpest virus (RPV)	Fıstık ( <i>Arachis hypogea</i> L.)	Agrobacterium aracılı	[12]
Sığır uçuğu virüsü	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Mekanik aşılama	[13]
İnsan papilloma virüsü	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[14]
Aktarılabılır gastroenterit virüs (TGEV)	Mısır ( <i>Zea mays</i> )	Agrobacterium aracılı	[15]
Bulaşıcı bronşit virüsü (IBV)	Patates ( <i>Solanum tuberosum</i> )	Agrobacterium aracılı	[16]
Şarbon	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Biyolistik yöntem	[17]
Hepatit B virüsü (HBV)	Patates ( <i>Solanum tuberosum</i> )	Agrobacterium aracılı	[18]
Newcastle hastalığı virüs (NDV)	Mısır ( <i>Zea mays</i> )	Biyolistik yöntem	[19]
Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	Yonca ( <i>Medicago sativa</i> L.)	Agrobacterium aracılı	[20]
Cottontail tavşan papilloma virüsü	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[21]
Bulaşıcı bursal hastalık virüsü (IBDV)	Çeltik ( <i>O. sativa</i> )	Agrobacterium aracılı	[22]
Hepatit B virüsü (HBV)	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[23]
H5N1 (kuş grip virüsü) & H1N1 (insan) influenza suşları	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[24]
Enterotoxigenik <i>E. coli</i>	Havuç ( <i>Daucus carota</i> )	Agrobacterium aracılı	[25]
Norwalk virus	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[26]
Kuş gribi (H5N1)	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[27]
Grip virüsü	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[28]
Kuş gribi (H5N1)	Su mercimeği ( <i>Lemna minör</i> )	Agrobacterium aracılı	[29]
Kanser (tümör işaretleyici)	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[30]
Kanser (tümör işaretleyici)	Çeltik ( <i>Oryza sativa</i> )	Biyolistik yöntem	[31]
Kanser (tümör işaretleyici)	Tahıl bitkileri ( <i>Triticum, Oryza sativa</i> )	Biyolistik yöntem	[32]
İnsan kolorektal kanseri	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[33]
HIV	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[34]
Ebola virus	Tütün ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Agrobacterium aracılı	[35]
Ebola virus	Marul ( <i>L. sativa</i> )	Agrobacterium aracılı	[36]

### 1.2. Bitkilerde Aşı Üretimi İçin Kullanılan Stratejiler

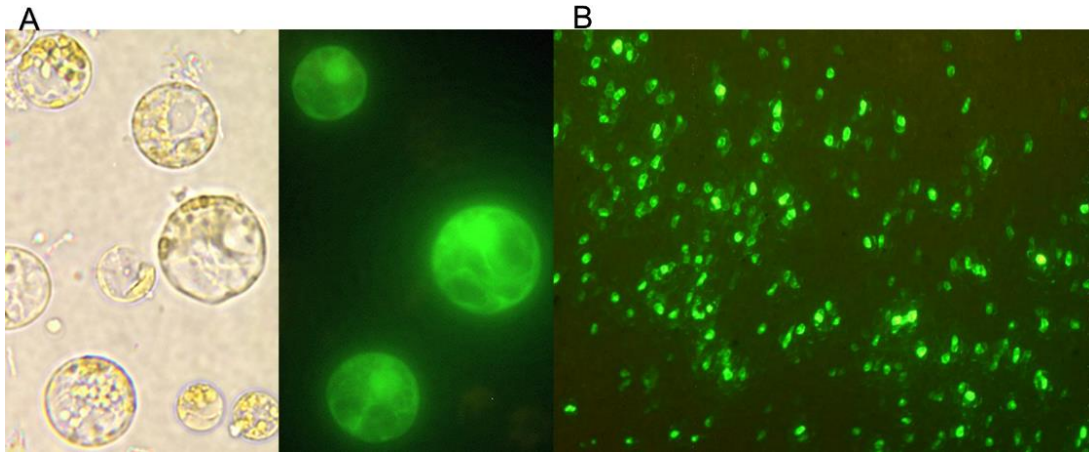
Bitkisel türevli aşı üretimi amacıyla kullanılabilir çok sayıda yöntem mevcuttur. Aşı/antijen üretimi, seçilen hedef gen dizisinin bitki hücresinde yerleştirildiği konuma bağlı olarak stabil veya geçici entegrasyonunu gerektirir. Bu amaçla aracı olarak çeşitli plazmit vektörler, bakteriler veya bitkisel patojenler kullanılabilir. Geçici transformasyon sisteminde ise heterolog gen, konakçı hücrelerde geçici süre kaldıktan hemen sonra istenen protein veya antijenin üretimi gerçekleşir. Stabil transformasyon sisteminde ise, hedef genin bitki çekirdek veya kloroplastına

entegrasyonu sağlanır. Bu adlandırma aktarılan gen dizisinin, bitki hücrelerinin genetiğinde meydana getirdiği kalıcı değişikliklerden ileri gelmektedir. Biyolistik yöntemi istenilen genin stabil transformasyonu için kullanılırken, bir bitki patojeni olan *Agrobacterium sp.* aracılı gen transferi, geçici ve stabil gen transferi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem ile elde edilen stabil transgenik bitkilerde nisbeten düşük oranda alt birim antijen üretimi sağlanabilir (toplam çözünebilir bitki protein oranının maksimum %0.3'ü) [37].



Şekil 1. Bitkilerde aşı üretimi için kullanılan stratejilere genel bakış

Biyolistik yöntemi, yaygın kullanılan diğer adlarıyla gen tabancası veya mikro mermi bombardmanı yöntemi, aşı antijeninin kodlanmasını sağlayacak gen dizisinin bitki hücrelerine doğrudan dahil edilmesini temel alan en yaygın ve vektörden bağımsız bir yöntemdir. Bu yöntemle çekirdek veya kloroplasta doğrudan transformasyon sağlanabilir [38]. Çekirdek transformasyonu, istenilen genin homolog olmayan rekombinasyon yoluyla entegre edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Ancak, ekspresyon seviyesinin düşük olması sebebi ile aşı üretiminde kullanılabilmesi için yüksek miktarda bitkisel doku üretimini gerektirir. Kloroplast transformasyonu ise çekirdek transformasyonuna kıyasla; gen susturma etkisini ortadan kaldırma yeteneği, istenilen proteinin veya antijenin yüksek kopya sayısında ifadesini sağlaması (Şekil 2) ve birden fazla geni ifade etme potansiyeli, hızlı ve düşük maliyetli bir üretim sağlaması sebepleri ile bitkisel türevli aşı üretiminde tercih edilmektedir. Aynı zamanda kloroplastlarda sağlanan yüksek antijen verimi, aşılama için gerekli bitki materyali miktarını azaltmakta, dondurularak kurutulmuş materyalin kapsüllenmesini veya hap oluşumunu kolaylaştırmaktadır [39]. Literatürde kolera, Lyme hastalığı, şarbon, tetanoz, veba, kuduz, rotavirüs ve köpek parvovirüs (CPV) aşılarının üretimi için bu yöntemin kullanıldığı ve hayvan modelinde immünizasyonunun sağlandığı bitkisel türevli aşı üretim çalışmaları bulunmaktadır [40, 41].



Şekil 2. (A) Doğrudan çekirdeğe aktarılmış yeşil floresans proteinleri (GFP) ile elektroporasyon yapılmış mısır protoplastları (B) Kloroplasta aktarılmış Lima fasulyesinde partikül bombardmanı aracılığıyla yeşil floresans proteinlerinin (GFP) ifadesi [42]. Kloroplastların (B) çekirdeğe (A) kıyasla daha yüksek seviyede ifade olmasının sebebi, bitki hücreindeki yüksek kopya sayısı sebebiyle hedefin birden fazla geni ifade edebilme potansiyelinden ileri gelmektedir.

*Agrobacterium sp.* aracılı gen transferi yönteminde, bitki hücrelerini doğal olarak enfekte eden ve bitki genomuna entegre olabilme potansiyeline sahip bakteriler kullanılır [43]. *Agrobacterium sp.* pek çok çift çenekli bitki türünde taç gal (crown gall) hastalığına neden olan bir toprak bakterisidir. Bakteri T-DNA'sı, Ti plazmid (tümör uyarıcı) olarak adlandırılan bir ekstrakromozomal plazmit üzerinde taşınır ve bitki genomik DNA'sına entegre olur. 200 kb uzunluğunda olan Ti plazmitinde eşsiz bir restriksiyon bölgesinin mevcut olmaması bitkiye aktarılacak istenilen genin (rekombinant bir antijeni kodlayan gen dizisi) doğrudan Ti plazmit içerisine konumlandırılabilmesini sınırlamaktadır. Bundan dolayı plazmite yeni DNA'nın entegrasyonu için stratejiler geliştirilmiştir: İkili vektör stratejisi, T-DNA'nın fiziksel olarak Ti plazmitinin tümünü bağlaması gerekmediği gözlemlerine dayanır. Nispeten küçük bir molekül üzerindeki T-DNA içeren ikili plazmit sistemi ve normal şekildeki plazmitin tümü, bitki hücrelerini transforme etmede etkilidir. Gerçekte bazı *A. tumefaciens* soyları ve akraba agrobakteriler, doğal olarak ikili plazmit sistemine sahiptirler. T-DNA'nın plazmiti eşsiz restriksiyon yerlerine sahip olacak ve standart teknikleri kullanarak manipüle edilecek kadar küçüktür [42]. Diğer bir strateji ise, koentegrasyon sistemidir. Bu sistemde ise, *E. coli* vektörlerine dayalı, fakat ufak bir T-DNA bölgesi taşıyan tamamıyla yeni bir plazmit kullanılmaktadır. Yeni molekül ile Ti plazmit arasındaki homoloji, eğer ikisi *A. tumefaciens* hücrelerinde bulunursa, rekombinasyon pBR plazmitini T-DNA bölgesine entegre edebilir anlamına gelir. Klonlanacak gen bundan dolayı pBR plazmiti üzerinde eşsiz bir restriksiyon yerine sokulup, *A. tumefaciens* hücrelerine aktarılır ve doğal rekombinasyon işlemi T-DNA'sına yeni genin entegre olması için kendi haline bırakılır. Bitkilerin enfeksiyonu bitki kromozomlarına, T-DNA'sının tümüyle birlikte, yeni genin sokulmasını sağlar [44].

*Agrobacterium* aracılı transformasyon çalışmalarında, bitkinin doğal patojeni olan virüsü modifiye edilerek vektör görevi görmektedir. Rekombinant virüs, bitkilerde viral enfeksiyon sırasında replikasyon aktivitesinin bir yan ürünü olarak istenen proteini veya peptidi ifade etmektedir. Yöntemin avantajları arasında, enfeksiyondan kısa bir süre sonra yüksek seviyede protein/antijen ekspresyonu, viral partikül yüzeyinde çoklu antijen kopyaları oluşturma kolaylığı yer almaktadır. Hepatit B, HPV (insan papiloma virüsü), H1N1 (influenza), kuş gribi, HIV gibi birçok hastalığa karşı bitkisel türevli aşı üretim çalışmalarında yöntemin başarı ile kullanıldığı ve antijen üretimini sağladığı görülmüştür (Tablo 1). Ancak, üretimi sağlanan antijenin aşı gibi farmasötik bir ürünün formülasyonunda kullanılabilmesi için bitki dokusundan saflaştırılma işleminin gerekliliği, rekombinant virüs ile enfekte olan bitkinin saflaştırma işlemi sırasında ölmesi ve yeniden kullanılamamasına neden olmaktadır. Bu sebeple enfeksiyon prosedürünün üretimde sürekliliği sağlamak için tekrar tekrar yapılması gereksinimini doğurmaktadır [45].

Bitkilerin doğal patojeni olan bazı RNA virüslerinin (tütün mozaik virüsü (TMV), patates virüsü X (PVX), yonca mozaik virüsü (AIMV), salatalık mozaik virüsü (CMV) ve börülce mozaik virüsü gibi tasarlanmış) ve DNA virüsü Geminivirüslerin bitki ekspresyon sistemi olarak beşeri ve veteriner aşı üretiminde kullanılabileceği düşünülmektedir [46]. Geminivirüslerle yapılan bir çalışmada *N. benthamiana* bitkisinde Ebola bağışıklık kompleksi (EIC) üretimi için kullanılmıştır. İnsan papilloma virüsü, influenza ve norovirüse karşı aşı üretmek amacı ile bitkisel sistemler kullanılmıştır. Bitki üretim platformunun hız ve uygulanabilirliği göz önüne alındığında, viral antijenlerin veya antiviral proteinlerin üretimine yönelik ani talebi karşılamak ve yüksek seviyelerde rekombinant proteinler üretmek için kullanılabilmesi durumu bir kez daha bitkisel kökenli aşılarda önemini gözler önüne sermiştir [47]. Rekombinant ürünlerin bitki hücresi süspansiyon kültürü ile üretimi, geleneksel mikrobiyal veya memeli konakçı sistemlerine göre daha güvenilir olmaları, uygun üretim maliyetleri ve protein translasyonu sonrası modifikasyon kapasiteleri gibi pek çok avantaj sunmaktadır. Günümüzde, geçici ifade platformunun geliştirilmesiyle bitkilerde protein/antijen üretimi hızlı ve yüksek miktarlarda gerçekleştirilebilmektedir [48]. Bakteriyel ve memeli hücrelerine benzer şekilde heterolog protein üretimi, bütün bitkilerden ziyade bitki hücrelerinin ayrı ayrı süspansiyonu yapılarak da elde edilebilmektedir. Sıvı ortamda büyütülen hücre süspansiyonu, aseptik bir ortamda büyük ölçekli protein üretimi için biyoreaktörlerde ölçeklendirilebilmektedir. Genetik mühendisliğindeki ilerlemeler ve hücre kültürü ortamında ürünün proteolitik bozunması ve işlevsellik kaybının en aza indirilmesi dahil olmak üzere bitki hücreleri kullanılarak rekombinant protein ekspresyonundaki darboğazların anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir [49]. Konakçı bitki dokularında bazı aşılarda üretim verimliliğinin artırılması için kimyasal uyarıcı ve sonikasyon yöntemi gibi ek yöntemler uygulanmaktadır. Kimyasal uyarım ile DNA'nın alınımı bu yöntemlerden en yaygın kullanılanıdır. Bitki protoplastları tarafından DNA alınımı hızlandırmak için en çok kullanılan kimyasal uyarıcı ise polietilen glikoldür (PEG). PEG, iyonik makromolekülleri (DNA'yı) çöktürerek, DNA'nın endositoz yoluyla protoplastlara alınımı teşvik eder ve böylece istenen genlerin geçici ifadesini mümkün kılar [50]. Bir diğer yöntem olan sonikasyon yöntemi ise, çözeltiyi karıştırmayı, çözünme oranını artırmayı ve çözünmüş gazları sıvıdan uzaklaştırmayı amaçlayan bir tekniktir [51]. Farmasötik uygulamalarda kullanılan rekombinant proteinlerin üretimi belirli kalite standartları gerektirir. Bitki ve bakteri yetiştirme, infiltrasyon, bitki hasadı, protein saflaştırma, formülasyon, bitmiş ürün kontrolleri vb. üretimin uluslararası gerekliliklerinin yerine getirilebilmesi amacı ile İyi Üretim Uygulamaları (GMP) sertifikasyonuna sahip üretim tesisleri gereklidir [6]. Örneğin, patates yumrularında üretilen norovirüs kapsid protein aşısı, Arizona Eyalet Üniversitesi'nde geliştirilmiş ve Kentucky BioProcessing GMP (İyi İmalat Uygulamaları) fabrikasında üretilmiştir [52]. Japonya'da, Çeltik bazlı kolera aşısı, Tokyo Üniversitesi Tıp Bilimleri Enstitüsü'nde (IMSUT) geliştirilmiş ve IMSUT'taki GMP tesisinde üretilmiştir [53].

## 2. Sonuç

Bitkiler, farmasötik ve farmasötik olmayan ürünlerin üretimi için geleneksel ekspresyon sistemlerine göre hem ekonomik hem de teknik avantajlara sahiptir. Çekirdek, kloroplast ekspresyonu ve viral transfeksiyon sistemleri gibi farklı teknolojiler ile kısa sürede daha iyi üretim ve çeşitlendirilmiş ürün hedeflerini ele almalarını sağlayan benzersiz özelliklere sahiptir. Ancak antijen- bitki ekspresyon konağının uyumu ve özellikle dozaj tutarlılığı, yöntemin sınırlayıcı faktörleri arasında yer almaktadır. Üretilen dozaj tek düzeligi, bitkilerin büyüklüğü ve olgunluğuna bağlı olarak, meyveden meyveye ve nesilden nesile değişiklik gösterebileceğinden, günümüzde üretimde, bitkisel dokudan proteinin izole edilip saflaştırıldığı yöntemler kullanılmaktadır [54]. Bitkisel türevli üretim yöntemi ile aspirde insülin (SemBioSys, Kanada), arpada büyüme faktörü (ORF Genetics, İzlanda), havuçta taliglucerez alfa (Protalix BioTherapeutics, İsrail), tütünde kuş gribi (Medicago, Kanada) ve Ebola aşısı vb. gibi aşuların geliştirildiği çok sayıda araştırma mevcuttur [55].

## Kaynaklar

- [1] Hamborsky, J., Kroger A., Wolfe S, eds. 13th ed. (2015) Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. *Washington D.C. Public Health Foundation*.1,4.
- [2] Wang, H., Dwyer-Lindgren L., Lofgren, K. T., Rajaratnam, J. K., Marcus, J. R., Levin-Rector, A., Levitz, C. E., Lopez, A. D., & Murray, C. J. (2012). Age-specific and sex-specific mortality in 187 countries, 1970–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, 380(9859), 2071-2094.
- [3] Ohmit, S. E., Victor, J. C. , Rothhoff, J. R., Teich, E. R., Truscon, R. K., Baum, L. L., Rangarajan, B., Newton, D. W., Boulton, M. L., & Monto, A. S. (2006). Prevention of antigenically drifted influenza by inactivated and live attenuated vaccines. *New England Journal of Medicine*, 355(24), 2513-2522.
- [4] Moghaddam, A., Olszewska, W., Wang, B., Tregoning, J. S., Helson, R., Sattentau, Q. J., & P. J. Openshaw (2006). A potential molecular mechanism for hypersensitivity caused by formalin-inactivated vaccines. *Nature Medicine*, 12(8), 905-907.
- [5] Lobato, F. C., Lima, C. G., Assis, R. A., Pires, P. S., Silva, R. O., Salvarani, F. M., Carmo, A. O., Contigli, C., & Kalapothakis, E., (2010). Potency against enterotoxemia of a recombinant *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid in ruminants. *Vaccine*, 28(38), 6125-6127.
- [6] Takeyama, N., Kiyono, H. & Yuki, Y. (2015). Plant-based vaccines for animals and humans: recent advances in technology and clinical trials. *Therapeutic Advances in Vaccines*. 3(5-6), 139-154.
- [7] Hefferon, K. L. (2010). The mucosal immune response to plant-derived vaccines. *Pharmaceutical Research*, 27(10), 2040-2042.
- [8] Schillberg, S., Raven N., Spiegel, H., Rasche, S. & Buntru, M. (2019). Critical analysis of the commercial potential of plants for the production of recombinant proteins. *Frontiers in Plant Science*, 10, 720.
- [9] Daniell, H., Rai, V. & Xiao, Y. (2019). Cold chain and virus- free oral polio booster vaccine made in lettuce chloroplasts confers protection against all three poliovirus serotypes. *Plant Biotechnology Journal*, 17(7), 1357-1368.
- [10] Mason, H. S., Lam, D. & Arntzen, C. J. (1992). Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(24), 11745-11749.
- [11] Tuboly, T., Yu, W., Bailey, A., Degrandis, S., Du, S., Erickson, L. & Nagy, E. (2000). Immunogenicity of porcine transmissible gastroenteritis virus spike protein expressed in plants. *Vaccine*, 18(19), 2023-2028.
- [12] Khandelwal, A., Sita, G. L., & Shaila, M. (2003). Oral immunization of cattle with hemagglutinin protein of rinderpest virus expressed in transgenic peanut induces specific immune responses. *Vaccine*, 21(23), 3282-3289.
- [13] Filgueira, D. P., Zamorano, P. I., Dominguez, M., Taboga, O., Zajac, M. D. M., Puntel, M., Romera, S. A., Morris, T. J., Borca, M., & Sadir, A. M. (2003). Bovine herpes virus gD protein produced in plants using a recombinant tobacco mosaic virus (TMV) vector possesses authentic antigenicity. *Vaccine*, 21(27-30), 4201-4209.
- [14] Varsani, A., Williamson, A. L., Rose, R. C., Jaffer, M., & Rybicki, E. P. (2003). Expression of Human papillomavirus type 16 major capsid protein in transgenic *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. *Archives of Virology*, 148(9), 1771-1786.
- [15] Lamphear, B. J., Jilka, J. M., Kesl, L., Welter, M., Howard, J. A., & Streatfield, S. J. (2004). A corn-based delivery system for animal vaccines: an oral transmissible gastroenteritis virus vaccine boosts lactogenic immunity in swine. *Vaccine*, 22(19), 2420-2424.
- [16] Zhou, J.-Y., Cheng, L.Q., Zheng, X.J., Wu, J.X., Shang, S.B., Wang, J.Y., & Chen, J.G. (2004). Generation of the transgenic potato expressing full-length spike protein of infectious bronchitis virus. *Journal of Biotechnology*, 111(2), 121-130.

- [17] Koya, V., Moayeri, M., Leppla, S. H., & Danielli, H. (2005). Plant-based vaccine: mice immunized with chloroplast-derived anthrax protective antigen survive anthrax lethal toxin challenge. *Infection and Immunity*, 73(12), 8266-8274.
- [18] Thanavala, Y., Mahoney, M., Pal, S., Scott, A., Richter, L., Natarajan, N., Goodwin, P., Arntzen, C. J. & Mason, H. S. (2005). Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis B. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(9), 3378-3382.
- [19] Guerrero-Andrade, O., Loza-Rubio, E., Olivera-Flores, T., Fehérvári-Bone, T., & Gómez-Lim, M. A. (2006). Expression of the Newcastle disease virus fusion protein in transgenic maize and immunological studies. *Transgenic Research*, 15(4), 455-463.
- [20] Joensuu, J., Verdonck, F., Ehrström, A., Peltola, M., Siljander-Rasi, H., Nuutila, A.M., Oksman-Caldentey, K.M., Teeri, T., Cox, E., & B. Goddeeris (2006). F4 (K88) fimbrial adhesin FaeG expressed in alfalfa reduces F4+ enterotoxigenic Escherichia coli excretion in weaned piglets. *Vaccine*, 24(13), 2387-2394.
- [21] Kohl, T., Hitzeroth, I., Stewart, D., Varsani, A., Govan, V., Christensen, N., Williamson, A.L. & Rybicki, E. (2006). Plant-produced cottontail rabbit papillomavirus L1 protein protects against tumor challenge: a proof-of-concept study. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(8), 845-853.
- [22] Wu, J., Yu, L., Li, L., Hu, J., Zhou, J., & Zhou, X. (2007). Oral immunization with transgenic rice seeds expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus induces protective immune responses in chickens. *Plant Biotechnology Journal*, 5(5), 570-578.
- [23] Huang, Z., LePore, K., Elkin, G., Thanavala, Y., & Mason, H. S. (2008). High- yield rapid production of hepatitis B surface antigen in plant leaf by a viral expression system. *Plant Biotechnology Journal*, 6(2), 202-209.
- [24] D'Aoust, M. A., Lavoie, P. O., Couture, M. M. J., Trépanier, S., Guay, J. M., Dargis, M., Mongrand, S., Landry, N., Ward, B. J. & Vézina, L. P. (2008). Influenza virus- like particles produced by transient expression in *Nicotiana benthamiana* induce a protective immune response against a lethal viral challenge in mice. *Plant Biotechnology Journal*, 6(9), 930-940.
- [25] Rosales-Mendoza, S., Soria-Guerra, R. E., López-Revilla, R., Moreno-Fierros, L., & Alpuche-Solís, Á. G. (2008). Ingestion of transgenic carrots expressing the Escherichia coli heat-labile enterotoxin B subunit protects mice against cholera toxin challenge. *Plant Cell Reports*, 27(1), 79-84.
- [26] Santi, L., Batchelor, L., Huang, Z., Hjelm, B., Kilbourne, J., Arntzen, C. J., Chen, Q., & Mason, H. S. (2008). An efficient plant viral expression system generating orally immunogenic Norwalk virus-like particles. *Vaccine*, 26(15), 1846-1854.
- [27] Kalthoff, D., Giritch, A., Geisler, K., Bettmann, U., Klimyuk, V., Hehnen, H.R., Gleba, Y. & Beer, M. (2010). Immunization with plant-expressed hemagglutinin protects chickens from lethal highly pathogenic avian influenza virus H5N1 challenge infection. *Journal of Virology*, 84(22), 12002-12010.
- [28] Shoji, Y., Farrance, C. E., Bautista, J., Bi, H., Musiychuk, K., Horsey, A., Park, H., Jaje, J., Green, B. J., & Shamloul, M. (2012). A plant- based system for rapid production of influenza vaccine antigens. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 6(3), 204-210.
- [29] Firsov, A., Tarasenko, I., Mitiouchkina, T., Ismailova, N., Shaloiko, L., Vainstein, A. & Dolgov, S. (2015). High-yield expression of M2e peptide of avian influenza virus H5N1 in transgenic duckweed plants. *Molecular Biotechnology*, 57(7), 653-661.
- [30] Vaquero, C., Sack, M., Chandler, J., Drossard, J., Schuster, F., Monecke, M., Schillberg, S. & Fischer, R. (1999). Transient expression of a tumor-specific single-chain fragment and a chimeric antibody in tobacco leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(20), 11128-11133.
- [31] Torres, E., Vaquero, C., Nicholson, L., Sack, M., Stöger, E., Drossard, J., Christou, P., Fischer, R. & Perrin, Y. (1999). Rice cell culture as an alternative production system for functional diagnostic and therapeutic antibodies. *Transgenic Research*, 8(6), 441-449.
- [32] Stöger, E., Vaquero, C., Torres, E., Sack, M., Nicholson, L., Drossard, J., Williams, S., Keen, D., Perrin, Y. & Christou P. (2000). Cereal crops as viable production and storage systems for pharmaceutical scFv antibodies. *Plant Molecular Biology*, 42(4), 583-590.
- [33] Brodzik, R., Glogowska, M., Bandurska, K., Okulicz, M., Deka, D., Ko, K., Van der Linden J., Leusen, J. H., Pogrebnyak, N. & Golovkin, M. (2006). Plant-derived anti-Lewis Y mAb exhibits biological activities for efficient immunotherapy against human cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8804-8809.
- [34] Floss, D. M., Sack, M., Stadlmann, J., Rademacher, T., Scheller, J., Stöger, E., Fischer, R. & Conrad, U. (2008). Biochemical and functional characterization of anti- HIV antibody–ELP fusion proteins from transgenic plants. *Plant Biotechnology Journal*, 6(4), 379-391.



- [35] Huang, Z., Phoolcharoen, W., Lai, H., Piensook, K., Cardineau, G., Zeitlin, L., Whaley, K. J., Arntzen, C. J., Mason, H. S. & Chen, Q. (2010). High- level rapid production of full- size monoclonal antibodies in plants by a single- vector DNA replicon system. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(1), 9-17.
- [36] Lai, H., He, J., Engle, M., Diamond, M. S. & Chen, Q. (2012). Robust production of virus- like particles and monoclonal antibodies with geminiviral replicon vectors in lettuce. *Plant Biotechnology Journal*, 10(1), 95-104.
- [37] Laere, E., Ling, A. P. K., Wong, Y. P., Koh, R. Y., Mohd Lila, M. A. & Hussein, S. (2016). Plant-Based Vaccines: Production and Challenges. *Journal of Botany*. Article ID 4928637
- [38] Naderi, S. & Fakheri, B. (2015). Overview of plant-based vaccines. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 10(10), 275-289.
- [39] Molina, A., Hervás- Stubbs, S., Daniell, H., Mingo- Castel, A. M. & Veramendi, J. (2004). High- yield expression of a viral peptide animal vaccine in transgenic tobacco chloroplasts. *Plant Biotechnology Journal*, 2(2), 141-153.
- [40] Kanagaraj, A. P., Verma, D. & Daniell, H. (2011). Expression of dengue-3 premembrane and envelope polyprotein in lettuce chloroplasts. *Plant Molecular Biology*, 76(3-5), 323.
- [41] Loza-Rubio, E., Rojas, E., Gomez, L., Olivera, M. & Gomez-Lim, M. (2008). Development of an edible rabies vaccine in maize using the Vnukovo strain. *Developments in Biologicals*, 131, 477-482.
- [42] Stewart Jr, C. N. (2016). Plant biotechnology and genetics: principles, techniques, and applications, *John Wiley & Sons. Inc Publication*, 10, 245-254.
- [43] Chen, Q. & H. Lai (2015). Gene delivery into plant cells for recombinant protein production. *BioMed Research International*, Article ID 932161,
- [44] Liu, W., Yuan, J. S. & Stewart Jr., C. N. (2013). Advanced genetic tools for plant biotechnology. *Nature Reviews Genetics*, 14(11), 781-793.
- [45] Yu, J. & Langridge, W. H. (2000). Novel approaches to oral vaccines: delivery of antigens by edible plants. *Current Infectious Disease Reports*, 2(1), 73-77.
- [46] Hefferon, K. L. (2014). DNA virus vectors for vaccine production in plants: spotlight on geminiviruses. *Vaccines*, 2(3), 642-653.
- [47] Shanmugaraj, B., Siri wattananon, K., Wangkanont, K. & W. Phoolcharoen (2020). Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac J Allergy Immunol*, 38(1), 10-18.
- [48] Buyel, J. F. (2018). Plant molecular farming—Integration and exploitation of side streams to achieve sustainable biomanufacturing. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1893.
- [49] Huang, T.K. & McDonald, K. A. (2009). Bioreactor engineering for recombinant protein production in plant cell suspension cultures. *Biochemical Engineering Journal*, 45(3), 168-184.
- [50] Jeon, J. M., Ahn, N. Y., Son, B. H., Kim, C. Y., Han, C.D., Kim, G.D., Gal, S. W. & Lee, S.H. (2007). Efficient transient expression and transformation of PEG-mediated gene uptake into mesophyll protoplasts of pepper (*Capsicum annum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 88(2), 225-232.
- [51] Santarem, E., Trick, H., Essig, J. & Finer, J. (1998). Sonication-assisted Agrobacterium-mediated transformation of soybean immature cotyledons: optimization of transient expression. *Plant Cell Reports*, 17(10), 752-759.
- [52] Tacket, C. O., Mason, H. S., Losonsky, G., Estes, M. K., Levine, M. M. & Arntzen, C. J (2000). Human immune responses to a novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. *The Journal of Infectious Diseases*, 182(1), 302-305.
- [53] Yuki, Y., Mejima, M., Kurokawa, S., Hiroiwa, T., Takahashi, Y., Tokuhara, D., Nochi, T., Katakai, Y., Kuroda, M. & Takeyama, N. (2013). Induction of toxin- specific neutralizing immunity by molecularly uniform rice- based oral cholera toxin B subunit vaccine without plant- associated sugar modification. *Plant Biotechnology Journal*, 11(7), 799-808.
- [54] Sharma, M. & B. Sood (2011). A banana or a syringe: journey to edible vaccines. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3), 471-477.
- [55] Faye, L. & V. Gomord (2010). Success stories in molecular farming—a brief overview. *Plant Biotechnology Journal*, 8(5), 525-528.

## Biological Diversity and Conservation

Cilt / Volume 14, Sayı / Issue 1, Nisan / April 2021

### Contents / İçindekiler

Yayın/Page No.-Sıra/Order No.

01. 1 Tabanidae (Insecta: Diptera) fauna of Kırıkkale/Turkey province
02. 13 The native and non-native new record species for the ichthyofauna of Elekçi River (Turkey)
03. 24 Seed-Coat microsculpturing of some *Cardamine* (Brassicaceae) taxa and its systematic importance
04. 28 Determination of the effect of different drying times on yield and essential oil content of Hyssop (*Hyssopus officinalis*) Plant
05. 35 Determination of genetic divergence in some bread wheat varieties by IRAP and ISSR analyses
06. 40 Medicinal properties of endemic Amanus mullein (*Verbascum amanum* BOISS) and Belen mullein (*Verbascum caesareum*) plant
07. 45 Seasonal changes in meat yields, chemical compositions and fatty acids of endemic Antalya barb (*Capoeta antalyensis*)
08. 53 Flora of Yassıhöyük (Gordion) (Polatlı/Ankara/Turkey)
09. 69 Ethnobotanical features of Ula (Muğla/Turkey) district
10. 82 Cytotoxic impacts of escin via inducing apoptosis and morphological changes on human prostate cancer cells
11. 88 Contributions to the Turkish Fauna of Spider Flies (Diptera: Brachycera: Acroceridae)
12. 93 Heavy metal content screening in leaves and flowers of *Hypericum origanifolium* by atomic absorption spectrometry
13. 98 Notes on biology of alfalfa weevil, *Sitona humeralis* Stephens, 1831 (Coleoptera: Curculionidae) in alfalfa fields of Iğdır/Turkey province
14. 105 Comparative pollen morphology studies on some species of Brassicaceae in Turkey
15. 119 The genus *Moenchia* (Caryophyllaceae) in Turkey
16. 132 Investigation of apoptotic activities of NOE on human ovarian cancer cells
17. 138 Passiflora genus, its importance of pharmacy and investigation of the samples which is sold by passiflora (çarkıfelek) name in the market of Turkey
18. 146 The genetic resources of *Taxus baccata* L. in Mustafakemalpaşa and Karacabey/Turkey
19. 155 Diversity of thermophilic archaea and their biotechnological uses
20. 167 Plant-derived vaccines

**Dergiyi tarayan veri tabanları / Abstracted-Indexed in:** Web of Science {Zoological Records Indexed} Clavariate Analytic, CiteFactor, Turkey Citation Index, 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; 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.

Web of Science-Clarivate Analytics, Zoological Record

Bu dergi CrossRef (DOI;10.46309/biodicon) üyesidir. (This journal is a CrossRef member (DOI;10.46309/biodicon))

Dergide yayımlanan 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)

© 2021 Tüm hakları saklıdır/All rights reserved

ISSN 1308-5301 Print / ISSN 1308-8084 Online

ISSN 1308-5301



9 771308 530001

## 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 requests.

### 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](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 Form***Biyolojik 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 taahhüt 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 infringre 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](mailto: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 Subscrption 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.

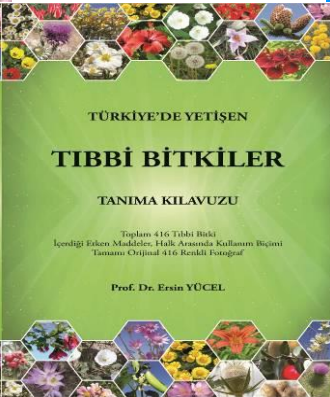
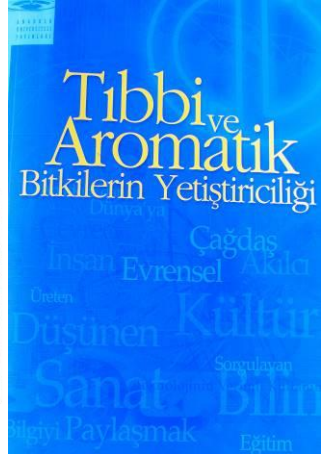
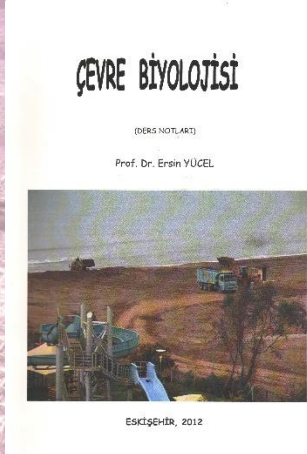
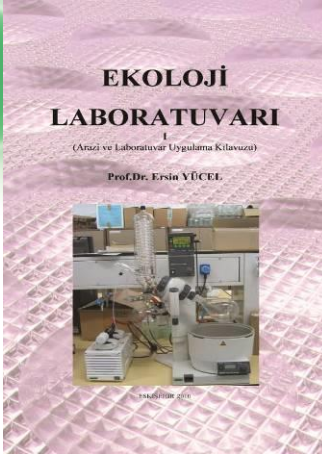
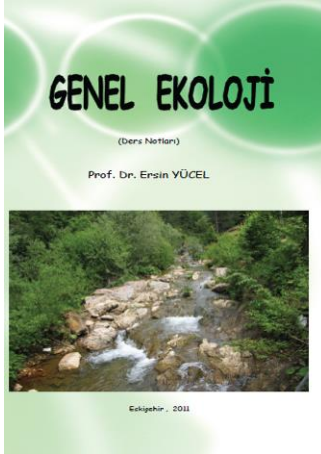
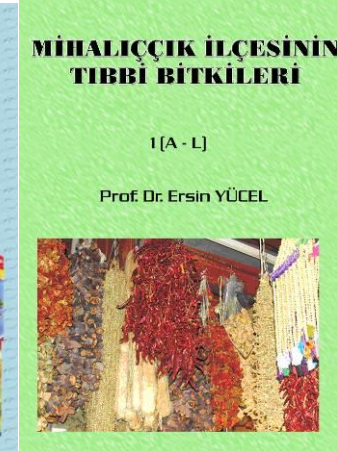
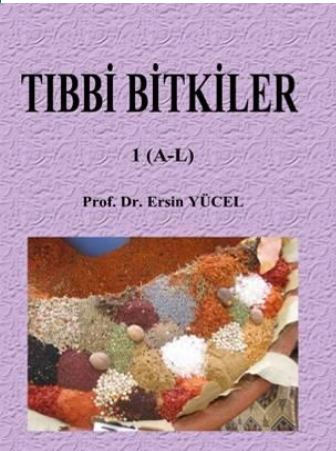
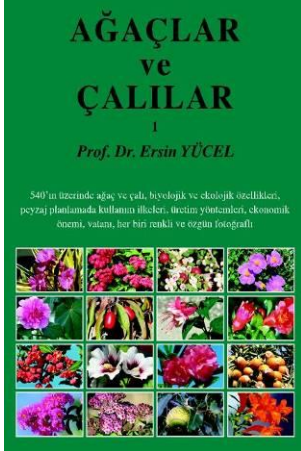
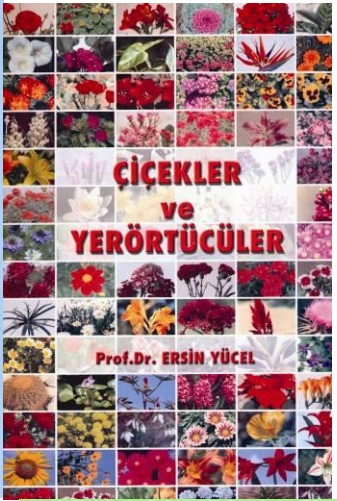
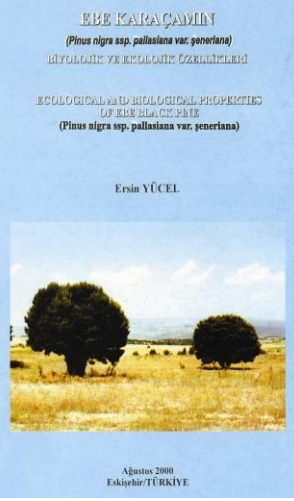
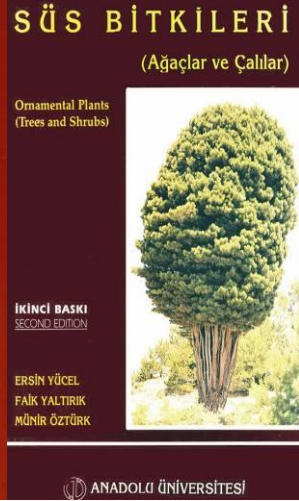
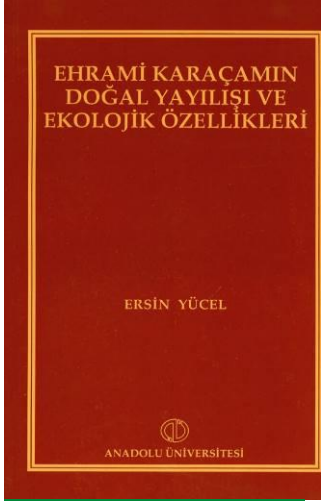
The payment of the article offering, please transfer total amount to the following bank account: **“AKBANK, Ersin Yücel, IBAN: TR24 0004 6011 0088 8000 0256 06”**. After that, this form is going to be sent the following address **“biodicon@gmail.com”**. The journal with cash on delivery will be sent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