

Türkiye Florasından Toplanan Geofitlerin DNA Miktar ve Safılıklarının Karşılaştırılması

Arif Atak, Yeşim Doyğacı, Adnan Doğan, Erdal Kaya
Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü ,77102, Yalova
e-posta: arif.atak@gthb.gov.tr

Özet

Türkiye florası farklı geofit cinsleri yönünden oldukça zengindir. Ayrıca pek çok endemik türede ev sahipliği yapmaktadır. Bu zenginlik pekçok tür ve çeşidin benzerlik ve farklılıklarını belirlemede zorlukları da beraberinde getirmektedir. Bu amaçla çeşitlerin birbirleri ile olan benzerlik ve farklılıkları için moleküler düzeyde tanımlamalar zorunludur. Bu moleküler çalışmaların temelini ise yeterli saflıkta ve miktarda DNA izolasyonu oluşturmaktadır. Ancak bu izolasyonun çok farklı cinslere mensup oldukça da fazla sayıda geofit popülasyonlarında yapılması için en uygun yöntemin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışma ülkemizde şimdiye kadar yapılan en kapsamlı DNA izolasyon çalışmasıdır. 110G007 No'lu Tübitak projesi kapsamında 38 farklı geofit cinsine ait toplam 3403 popülasyon ile 4 yıl süre ile çalışılmıştır. Ön denemeler ile 8 farklı metot karşılaştırılmış ve tüm cinsler baz alındığında en uygun DNA izolasyon metodu olarak Dneasy Plant Kit seçilmiştir. Daha sonra tüm popülasyonların DNA izolasyonu bu kit ile yapılmıştır. Bunlardan 2513 tanesinde DNA izolasyonu sorunsuz olurken 890 popülasyona ait DNA' lar istenen kalitede izole edilememiştir. En iyi sonuç veren cinsler *Leontice* (%100), *Eranthis* (%100), *Colchicum* (%100), *Erodium* (%100), *Fritillaria* (%96), *Cyclamen* (%93), *Tulipa* (%92), *Pelargonium* (%91), *Geranium* (%88), *Ranunculus* (%88 ve *Allium* (%86) olurken en sorunlu cinsler ise *Eremurus* (%0), *Hyacinthella* (%25), *Oxalis* (%27), *Asphodeline* (%28), *Biarum* (%36) ve *Eminium* (%40) olmuştur.

Anahtar kelimeler: İzolasyon, geofitler, popülasyon, DNA, karşılaştırma

Comparison of DNA Quantity and Purity of Geophytes Collected from Turkey Flora

Abstract

Turkey has very rich flora in terms of geophyte species. Also Turkey homeland of many endemic species. This richness also causes some difficulties to determine the similarities and differences of species. For this reason, molecular identification is essential in order to determine their similarity and differences. The basis of molecular studies are sufficient purity and quantity of DNA isolation. However, determining the most appropriate method for the isolation of many different genus belonging to quite a large number of the population is of great importance due to be held in geophytes. This study is the most comprehensive study ever done for DNA isolation. 38 different genus and total 3403 geophyte population was studied for 4 years in this project (Tübitak Project Number 110G007). 8 different methods were compared with the pre-trials and finally DNeasy Plant DNA isolation kit method was selected as he most appropriate method. DNA isolation of the all populations were made with this kit. Desired amount and purity of DNA was obtained from 2513 population on the other hand desired quality DNA couldn't be isolated from 890 population. The best results obtained genus *Leontice* (100%), *Eranthis* (100%), *Colchicum* (100%), *Erodium* (100%), *Fritillaria* (96%), *Cyclamen* (93%), *Tulipa* (92%), *Pelargonium* (91%), *Geranium* (88%), *Ranunculus* (88%) and *Allium* (86%), while the most problematic genus *Eremurus* (0%), *Hyacinthella* (25%), *Oxalis* (27%), *Asphodeline* (28%), *Biarum* (36%) and *Eminium* (40%), respectively.

Keywords: DNA isolation, isolation, geophytes genus, population

Giriş

Türkiye florası soğanlı, yumru ve rizomlu bitkiler olan geofitler yönünden oldukça zengindir ve bu bitkiler Türkiye florasında önemli bir yer tutar (Arslan, 1998). Ülkemiz dünyada geofitler bakımından en önemli 5 merkezden olan Akdeniz geofit bölgesi içinde yer alır. Ülkemizde doğal yetişen geofit sayısı 1056 taksondur ve bunlardan 424 tanesi endemik olup, endemizm oranı %40'dır. Ilıman kuşakta hiçbir ülke bu

kadar zengin bitki örtüsüne sahip değildir (Özhatay, 2013).

Genellikle süs bitkisi olarak kullanılan geofitlerden bazıları son yıllarda fitokimyasal içeriklerinin belirlenmesi ile birlikte sonucunda ilaç hammaddesi için yetiştirilmeye de başlanmıştır (Şener ve ark., 1998; Eichhorn ve ark, 1998; Duman ve ark., 2002; Dimayuga, 2002; Sargın ve ark., 2013). Ülkemiz doğasından toplanan farklı geofitlerin ihracatı da yapılmaktadır. Bu ihracat rakamlarının son

yıllarda ciddi artışlar gösterdiği bildirilmektedir (Özel ve Erden, 2010).

Son yıllarda biyoteknolojik çalışmaların farklı amaçlar için kullanımı giderek artmaktadır. Özellikle ıslah çalışmalarında farklı tekniklerle kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Bu çalışmaları farklı geofit türleri ile yapabilmek için yüksek saflıkta ve yeterli miktarda izole edilmiş DNA örneklerine ihtiyaç vardır. Bazı türlerde DNA izolasyonu sorunsuz bir biçimde yapılırken bazı türlerde ise polifenoller ve diğer sekonder metabolitler sebebiyle saf halde DNA ekstraksiyonu oldukça zordur (Murray ve Thompson, 1980; Ziv, 1997; Sahasrabudhe ve Deodhar, 2010; Tiwari ve ark., 2012). Bu sebeple bazen farklı türler için modifiye metotlar denemek gerekebilir. Genellikle genç ve kısmen açılmış yapraklar DNA izolasyonu için tercih edilir. Çünkü bu yapraklar daha az miktarda polifenol ve diğer DNA izolasyonunu zorlaştıran sekonder metabolitleri içerirler (Shankar ve ark., 2011). DNA izolasyon protokollerinde yüksek saflıkta ve miktarda DNA elde etmek ana amaçtır ve bu amaçla elde edilen DNA ların spektrofotometre ve agaroz jelde kontrol edilmeleri gerekir (Channarayappa, 2007; Varma ve ark., 2007)

DNA izolasyon çalışmalarında elde edilen DNA'ların saflık ve kaliteleri birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Bu sebeple özellikle fazla sayıda tür ve bireyle çalışırken mutlaka optimize edilen bir metodun kullanılması gerekir. Son yıllarda insan sağlığı için zararlı kimyasalları içermemesi, çabuk sonuç vermesi ve pekçok tür için kullanılabilir olması sebebiyle geliştirilen farklı DNA izolasyon kitleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak her kit her türde iyi sonuç veremeyebilmektedir (Zetzsche ve ark., 2008). Genellikle silika temelli kitler bu anlamda en iyi sonuç veren grubu oluştururlar. Elde edilen DNA'ların saflığını arttırmak için bazen ekstra etanol ve isopropanol kullanımıda bu kitlerde oldukça yaygındır (Drabkova ve ark., 2002; Al-Saghir, 2009; Mirmomeni ve ark., 2010)

Saf halde yeterli DNA izolasyonu yapıldıktan sonra farklı moleküler çalışmalarda özellikle de genetik tanımlama, genetik haritalama, ilişki haritaları ve ıslaha yardımcı olmak amacıyla marköre dayalı seleksiyon çalışmalarında farklı geofit cins ve türleri ile yürütülmüştür (Ranjan ve ark., 2010; Beiki ve

ark., 2011; Taşkın ve ark., 2012; Ronsted ve ark., 2005; Atak ve ark., 2014). Ayrıca son yıllarda izole edilen DNA'lar kullanılarak genomun tamamının sekansı yapılabilmekte ve böylelikle tüm genom hakkında bilgi sahibi olmak mümkün olmaktadır (Nybom ve ark., 2014).

Bu çalışmada Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı birçok Araştırma Enstitüsü ve Üniversite'nin katılımıyla 110G007 No'lu Tübitak projesi kapsamında 38 farklı geofit cinsine ait toplam 3403 populasyon ile 4 yıl süre ile çalışarak DNA izolasyonları yapılmıştır. Bu çalışma ülkemizde şimdiye kadar geofitlerle yürütülen en kapsamlı DNA izolasyon çalışmasıdır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

DNA izolasyonu yapılan cinsler ve popülasyon sayıları Çizelge 1'de topluca verilmiştir. Çalışma Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü süs bitkileri alıştırma ortamı ve biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışma 38 farklı geofit cinsine ait toplam 3403 populasyon ile yürütülmüştür.

Çalışılan cinslerin isimleri şu şekildedir; *Allium*, *Crocus*, *Fritillaria*, *Ornithogalum*, *Muscari*, *Orchiadaceae*, *Geranium*, *Cyclamen*, *Bellevalia*, *Scilla*, *Anemone*, *Gladiolus*, *Gagea*, *Arum*, *Romulea*, *Asphodeline*, *Primula*, *Galanthus*, *Biarum*, *Narcissus*, *Sternbergia*, *Eradium*, *Corydalis*, *Asphodelus*, *Delphinium*, *Oxalis*, *Chinodoxa*, *Eranthis*, *Eremurus*, *Hyacinthella*, *Veratrum*, *Tulipa*, *Pelargonium*, *Iris*, *Leontice*, *Eminium*, *Ranunculus*, *Colchicum*.

Ön denemeler ile 8 farklı metot (Çizelge 1) karşılaştırılmış ve tüm cinsler baz alındığında en uygun DNA izolasyon metodu olarak Dneasy Plant Kit seçilmiştir. Kitin metot kısmına Atak ve ark., (2014a) tarafından yapılan modifikasyonlar uygulanarak tüm popülasyonların DNA izolasyonu bu şekilde yapılmıştır.

Genomik DNA Ekstraksiyonu

Geofit cinslerine ait popülasyon örneklerinin DNA izolasyonu ön denemeler sonucunda en iyi sonuç veren DNeasy Plant Mini Kiti (Qiagen) ile yapılmıştır. Kit ile çalışırken öncelikle yaprak dokularının iyice homojenize edilmesi gerekir. 2.0 ml'lik yüksek basınca dayanıklı plastik tüplere içerisine 1-2 adet tungsten bilyeler atılarak üzerine 0,1 gr yaprak

örneği ilave edilmiştir. Tüpler ağızları kapatıldıktan sonra 30-60 saniye sıvı azot içerisine daldırılmıştır. Daha sonra tüpler örneğin özelliğine bağlı olarak yaklaşık 2-4 dakika, saniyede 30 kez titreşim yapan Tissue Lyser II (Qiagen) homejenizatörü cihazı ile parçalanmışlardır. Parçalanmış örnekler kitin el kitabındaki protokole bazı modifikasyonlar yapılarak DNA izolasyon işlemi yapılmıştır (Qiagen Sample and Assay Technologies, 2006). DNA saflık ve miktarlarının belirlenmesi

DNA izolasyon çalışması neticesinde elde edilen saf DNA miktar (ng/μl) ve saflıkları (A260/A280) önce Picodrop Spektrofotometre (Picodrop Microliter UV/Vis Spectrophotometer) ve daha sonra %1 lik agaroz jel ile yapılan ölçümler neticesinde belirlenmiştir. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerde özellikle saflık değerinin belirlenmesinde 260 nm ve 280 nm deki absorpsiyon değerlerinin oranı esas alınmıştır. Tüm okumalar birkaç tekrarlı olarak yapılmış ve ortalama değerler alınmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde her iki uygulamada da yeterli kalitede ve saf halde sonuç veren örneklerin DNA izolasyonunun sorunsuz olduğu kabul edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Toplam 3403 popülasyon örneğinin DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Tüm DNA izolasyonları taze açmış yapraklardan 100 mg olarak alınan örneklerle yapılmıştır. Yapılan izolasyon sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde çalışılan cinsler içerisinde DNA izolasyonunun miktar ve saflık açısından en başarılı yapıldığı cinsler *Leontice* (%100), *Eranthis* (%100), *Colchicum* (%100), *Erodium* (%100), *Fritillaria* (%96), *Cyclamen* (%93), *Tulipa* (%92), *Pelargonium* (%91), *Geranium* (%88), *Ranunculus* (%88) ve *Allium* (%86) olurken en sorunlu cinsler ise *Eremurus* (%0), *Hyacinthella* (%25), *Oxalis* (%27), *Asphodeline* (%28), *Biarum* (%36) ve *Eminium* (%40) olmuştur. *Leontice*, *Eranthis*, *Colchicum*, *Erodium* cinsine mensup toplam 36 popülasyondan alınan DNA örneklerinin tamamında iyi kalitede DNA elde edilmiş ve bunlar Çizelge 2'de %100 iyi DNA oranı ile gösterilmiştir. Ancak *Eremurus* cinsine mensup 6 popülasyondan örnek alınmış ve bunların tamamında DNA izolasyonu sorunlu olmuştur. Bu sebeple iyi DNA oranı aynı Çizelgede %0 olarak gösterilmiştir. Bu cins yapılan çalışmalar

sonucunda DNA izolasyonu en sorunlu cins olarak ön plana çıkmıştır. Bu cinsi sırasıyla *Hyacinthella*, *Oxalis*, *Asphodeline* ve *Biarum* cinsleri takip etmiştir. Genel anlamda çalışılan 4 örneğin %74 lik kısmında DNA izolasyonu sorunsuz iken %26 lik kısmında ise düşük kalitede DNA elde edilmiştir.

DNA izolasyonu sorunsuz olan örneklerin ortalama DNA miktarı 94 ng/μl ve saflık değeri 1.87 olarak bulunmuştur. Cinslere mensup popülasyonların saflık ortalamaları baz alınarak yapılan değerlendirmede cinslerin birkaç istisna dışında 1.7-1.9 yüksek saflık değeri aralığında olduğu görülmüştür. İzole edilen DNA miktarları cinsler bazında değerlendirildiğinde DNA izolasyonu sorunsuz olan cinsler içinde en yüksek değeri 198 ng/ μl ortalama değer ile *Leontice* cinsinden elde edilirken onu sırasıyla *Tulipa* (165 ng/μl), *Iris* (157 ng/μl) ve *Eminium* (156 ng/μl) takip etmiştir. Düşük miktarda DNA ise, DNA izolasyonu sorunlu olan popülasyonlardan elde edilmiş ve miktarın genellikle 50 ng/ μl nin altında olduğu görülmüştür. Özellikle *Asphodeline*, *Oxalis*, *Hyacinthella*, *Eminium* ve *Muscari* cinsine ait genel miktar ortalamalarının diğerlerine göre oldukça düşük kaldığı görülmüştür. Bunun özellikle bu cinslere ait yaprak örneklerinin diğerlerinden farklı olmasından (lifli, sert ve fenolik içeriği daha yüksek) kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu geofit türlerinden DNA izolasyonu yaparken mümkün olduğunca fazla sayıda en taze organlardan örnek alınması ve yüksek fenolik içeriğe karşı farklı kimyasallar ile izole edilen DNA örneklerinin birkaç kez yıkanması önerilmektedir. Bu tür örneklerin moleküler çalışmalarda kullanılması genellikle arzu edilen sonuçların elde edilememesine neden olmaktadır (Bashir, 2010). Özellikle *Crocus* gibi cinslerin yaprakları ilerleyen zamanda oldukça lifli sert bir hal almakta buda DNA izolasyonunu çok zorlaştırmaktadır. Bu gibi cinslerin DNA izolasyonu yapılacak taze ve kolay homojenize edilen yaprakları yok ise toprak altı gibi farklı kısımları DNA izolasyonu için kullanılması daha uygundur (Beiki ve ark., 2009). Ancak Taşkın ve ark.(2012) tarafından *Cyclamen alpinum* türü ile yaptıkları bir çalışmada yaprak ve yumruların elde ettikleri DNA örneklerini RAPD-PCR çalışmasında kullanmışlar sonuçta özellikle yumruların yapılan izolasyonlarda elde edilen DNA örnekleri içinde fazla miktarda polisakkarit

ve fenolik bileşik olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle yumrulardan izole edilen DNA'ların PCR çalışmaları öncesi TE bafırla seyreltilerek miktarlarının azaltılmasını halinde olumlu sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca aynı cins mensup farklı tür ve alt türlerde kendi içinde farklılık gösterebilmektedir (Van Tuyl ve Boon, 1996).

Çalışmada en fazla *Allium* cinsine mensup popülasyonlar (1006 adet) ile çalışılmıştır. Çalışılan *Allium*'lar içerisinde birkaç istisna dışında DNA izolasyonları taze yapraklardan sorunsuz olarak yapılabilmiştir. DNA izolasyonu sorunlu olan popülasyonlardaki bireylerin ise yüksek fenolik bileşen ve polisakkaritlere sahip olduğu düşünülmektedir. Farklı araştırmacıların *Allium* cinsine mensup türler ile yaptıkları çalışmalarda bu çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Arbi ve ark.(2009) tarafından *Allium roseum* L. ile yapılan benzer bir çalışmada spektro ile yapılan ölçümlerde saflık ve miktar olarak bu çalışmada elde edilen değerlere çok yakın sonuçlar elde edilmiştir. Shashi ve ark. (2010) tarafından *Allium stracheyi* tohumlarından DNA izolasyonu yüksek saflıkta ve yeterli miktarda yapılmış ve özellikle tohumlardan elde edilen DNA'ların fenoller ve diğer polisakkaritlerden arı olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle yaprak örnekleri fenolik bileşenler ve diğer polisakkaritlerce zengin olan ve yeterli saflık ve miktarda DNA elde edilemeyen türler için tohumlarında genomik DNA eldesi için kullanılabileceği bilinmektedir.

Toplam 38 cins mensup 3403 popülasyon ile yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde elde edilen sonuçların oldukça başarılı olduğu söylenebilir. Tüm çalışılan örnekler baz alındığında %75 civarında başarılı bir biçimde DNA izolasyonu yapılmıştır. Çok farklı özellikte cinslere ait yaprak örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda hep arzu edilen sonucu elde etmek oldukça zordur (Fleischmann ve Heubl, 2009). Çünkü aynı yöntemi modifiye etmeden tüm cins ve türlere uygulamak başarı oranını düşürmektedir. Çünkü her bir cinsin yaprak yapısı, kimyasal içeriği ve DNA miktarı aynı değildir. Benzer bir çalışma Mirhomeni ve ark.,(2010) tarafından yapılmış klasik yöntemlerle birlikte ticari bitki DNA izolasyon kitlelerinde başarı ile farklı PCR çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca Drábková ve ark.,(2002) 7 farklı metodu karşılaştırarak yaptıkları çalışmada

özellikle modifiye edilmiş CTAB ve DNeasy Plant Kit en iyi sonucu verirken diğerlerinden beklenen kalitede DNA elde edilememiştir.

Sonuç

Bu çalışma 38 farklı geofit cinsine mensup 3403 popülasyondan alınan örnek ile yapılan ülkemizdeki en kapsamlı çalışmalardan birisidir. Bu çalışma ile ticari olarak satılan ve pek çok araştırmacı tarafından kullanılmakta olan "Bitki DNA İzolasyon Kiti (Qiagen)"nin bazı modifikasyonlar neticesinde birkaç geofit cinsi hariç pek çok geofit cinsinde güvenle kullanılabileceği ortaya konmuştur. Özellikle fazla sayıda örnek ile kısa bir sürede çalışmak isteyen araştırmacılar için bu yöntemin güvenle kullanılabileceği anlaşılmıştır. Sadece yüksek fenolik içeriğe ve lifli yapıya sahip olan türlerin yapraklarında zaman zaman sorunlar çıkmasına karşılık bu sorunlu türler için yaprak dışındaki vegetatif organlar DNA izolasyonu için kullanılabilir.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından "1007 Kamu Kurumları Araştırma ve Geliştirme Projelerini Destekleme Programı" çerçevesinde 110G007 No'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Al-Saghir, M.G., 2009. Rapid and efficient method of genomic DNA extraction from pistachio trees (*Pistacia vera* L.). Research J. Botany. 4: 70-73.
- Atak, A., Kaya, E., Erken, K., 2014a. Determination of quantity and purity of some geophytes DNA collected from flora of Turkey. Asian J. Plant Sci., 13(3): 98-110.
- Atak, A., Aydın, B., Doyğacı, Y., Doğan, A., Yıldırım, K.C., Kaya, E., 2014b. Farklı geofit cinslerinin genomik DNA ve saflıklarının belirlenmesi. Bahçe 43(1-2): 1-8.
- Arbi, G.B., Naceur, C., Messaoud, M., Boussaid, M., Neffati, M., 2009. A simple rapid and efficient method for the extraction of genomic DNA from *Allium roseum* L. (*Alliaceae*). African J. Biotech. 8(17): 4020-4024.
- Arslan, N., 1998. Türkiye'de doğal çiçek soğanlarının potansiyeli ve geleceği, I. Ulusal Süs Bitkileri Kong., 209-215.
- Bashir, A., 2010. Antioxidant activity and phenolic compounds from *Colchicum luteum* Baker (*Liliaceae*). Afric.J.Biotech. 9(35):5762-5766.

- Beiki, A.H., Keify, F., Mozafari, J., 2011. Rapid genomic DNA isolation from corm of *Crocus* species for genetic diversity analysis. J. Medicinal Plants Research, 5(18): 4596-4600.
- Channarayappa, 2007. Molecular Biotechnology. Principles and Practices. 1st Edn.. University Press. London. 1228 p.
- Dimayuga, R.E., 2002. Medicinal and aromatic plants industrial profiles. In: M. Lis Balchin (Ed.). *Geranium* and *Pelargonium*, V.27., Taylor & Francis. London. 318p.
- Drábková, L., Kirschner, J., Vlcek, C., 2002. Comparison of seven DNA extraction and amplification protocols in historical herbarium specimens of *Juncaceae*. Plant Mol. Bio. Reporter 20: 161–175.
- Duman, H., Koyuncu, M., Ünal, F., 2002. Türkiye'nin kış nergizleri (*Sternbergia* Waldst. & Kit. /*Amaryllidaceae*). The Karaca Arboretum Magazin 6(3):124-130.
- Eichhorn, J., Takada, T., Kita, Y., Zenk, M.H., 1998. Biosynthesis of the *Amaryllidaceae* alkaloid Galanthamine. Phytochemistry 49(4):1037-1047.
- Fleischmann, A., Heubl, G., 2009. Overcoming DNA extraction problems from carnivorous plants. Anales Jard. Bot. Madrid 66(2): 209-215.
- Mirmomeni, M.H., Sajjadi Majd, S., Sisakhtnezhad, S., Doranegard, F., 2010. Comparison of the three methods for DNA extraction from paraffin-embedded tissues. J. Biol. Sci., 10: 261-266.
- Murray, M.G., Thompson, W.F., 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 8(19): 4321-4325.
- Nybom, H., Weising, K., Rotter, B., 2014. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. Investigative Genetics, 5:1.
- Özhatay, N., 2013. Türkiye'nin süs bitkileri potansiyeli: Doğal monokotil geofitler. V.Süs Bitkileri Kong. Yalova, Cilt:1, 1-12.
- Qiagen Sample and Assay Technologies. 2006. DNeasy Plant Hand Book. (<http://www1.qiagen.com/literature>).
- Ranjan, S., Kishore, G., Jadon, V.S., Bhatt, J.P., Gupta, S., 2010. Standardization of extraction of genomic DNA and PCR-RFLP conditions of *Allium stracheyi*: A high altitude plant. Academia Arena 2(7): 11-14.
- Ronsted, N.S., Law, S., Thornton, H., Fay, M.F., Chase, M.W., 2005. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae; Liliales) and the infrageneric classification of *Fritillaria*. Molecular Phylogenetic and Evolution 35: 509-527.
- Sargın, S.A., Selvi, S., Akçiçek, E., 2013. Alaşehir (Manisa) ve çevresinde yetişen bazı geofitlerin etnobotanik açıdan incelenmesi. Erciyes Üniv. Fen Bilimleri Ens. Dergisi, 29(2):170-177.
- Shankar. K., Chavan, L., Shinde, S., Patil, B., 2011. An improved DNA extraction protocol from four in vitro banana cultivars. Asian J. Biotech., 3: 84-90.
- Shashi. R., Garima, K., Vikash, S.J., Bhatt, J.P., Sanjay, G., 2010. Standardization of extraction of genomic DNA and PCR-RFLP conditions of *Allium stracheyi*: A high altitude plant. Academia Arena 2(7):11-14.
- Sahasrabudhe, A., Deodhar, M., 2010. Standardization of DNA extraction and optimization of RAPD-PCR conditions in *Garcinia indica*. International J. Botany, 6: 293-298.
- Şener, B., Koyuncu, M., Bingöl, F., Muhtar, F., 1998. Production of bioactive alkaloids from Turkish geophytes. Pure Appl. Chem..70: 11.
- Taşkın, B.G., Vardareli, N., Doğan, E., Mammadov, R., Taşkın, V., 2012. Genetic diversity of natural *Cyclamen alpinum* populations. Turk. J. Biol., 36: 413-422.
- Tiwari, K.L., Jadhav, S.K., Gupta, S., 2012. Modified CTAB technique for isolation of DNA from some medicinal plants. Research J. Medicinal Plant 6(1): 65-73.
- Van Tuyl, J.M., Boon, E., 1996. Variation in DNA-Content in the genus *Lilium*. Proc. Int'l Symp. On Flower Bulbs. Acta Hort. 430: 829-835.
- Varma, A., Padh, H., Shrivastava, N., 2007. Plant genomic DNA isolation: An art or a science. Biotechnology Journal, 2: 386-392.
- Zetzsche, H., Klenk, H.P., Raupach, M.J., Knebelberger, T., Gemeinholzer, B., 2008. Comparison of methods and protocols for routine DNA extraction in the DNA Bank Network. Systematics, 11.04.2008 Germany.
- Ziv, M., 1997. The contribution of biotechnology to breeding. Propagation and disease resistance in geophytes. Biotechnology and Propagation. Int. Proc. Int'l Symp. On Flower Bulbs. (Eds.): H. Lilien-Kipnis. A.H. Halevy. A. Borochoy. Acta Hort.430: 247-258.

Çizelge 1. DNA izolasyonu için ön denemede kullanılan izolasyon kitleri

No	İzolasyon Kitinin Adı	Firma
1	Dneasy Plant Kit	Qiagen
2	GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit	Thermo
3	AxyPrep MAG Plant Genomic DNA Extraction Kits	Axygen
4	E.Z.N.A. Plant DNA Kit	Omega
5	Norgen Plant RNA/DNA Purification Kit	Biomatik
6	ULTRAPrep Plant Genomic DNA from Plants	AHN
7	InnuPREP Plant DNA Kit	Analytic Jena
8	CTAB Buffer Yöntemi	-

Çizelge 2. 38 Geofit cinsine ait DNA izolasyon sonuçları

Cins Adları	DNA izolasyonu iyi	DNA izolasyonu sorunlu	Toplam	DNA izolasyonu iyi olanlar		DNA izolasyonu sorunlu olanlar		İyi DNA (%)
				Ortalama miktar ng/ul	Ortalama saflık 260/280 nm	Ortalama miktar ng/ul	Ortalama saflık 260/280 nm	
<i>Allium</i>	867	139	1006	104	1.84	79	1,87	86
<i>Crocus</i>	308	86	394	65	1.88	144	1,85	78
<i>Ornithogalum</i>	271	87	358	93	1.87	72	1,90	76
<i>Muscari</i>	160	182	342	58	1.84	35	1,85	47
<i>Orchiadaceae</i>	127	59	186	76	1.86	57	1,77	68
<i>Geranium</i>	89	12	101	133	1.75	97	1,73	88
<i>Cyclamen</i>	51	4	55	102	1.89	14	1,78	93
<i>Scilla</i>	56	20	76	114	1.88	88	1,77	74
<i>Anemone</i>	50	12	62	122	1.84	118	1,85	81
<i>Gagea</i>	63	18	81	57	1.83	64	1,86	78
<i>Romulea</i>	31	11	42	69	1.88	38	1,95	74
<i>Asphodeline</i>	18	46	64	41	1.88	32	1,79	28
<i>Primula</i>	36	17	53	54	1.87	29	1,98	68
<i>Arum</i>	23	21	44	158	1.92	128	1,87	52
<i>Bellevia</i>	30	18	48	109	1.90	38	1,68	63
<i>Galanthus</i>	35	8	43	92	1.85	78	1,90	81
<i>Fritillaria</i>	53	2	55	117	1.85	59	1,73	96
<i>Gladiolus</i>	37	27	64	69	1.87	62	1,81	58
<i>Biarum</i>	10	18	28	101	1.93	56	2,04	36
<i>Narcissus</i>	13	16	29	50	1.92	45	2,20	45
<i>Sternbergia</i>	21	8	29	94	1.93	84	1,92	72
<i>Eradium</i>	13	0	13	55	1.87	0	0,00	100
<i>Corydalis</i>	41	10	51	72	1.89	67	1,70	80
<i>Asphodelus</i>	6	6	12	48	1.84	18	1,85	50
<i>Delphinium</i>	12	3	15	118	1.98	217	1,84	80
<i>Oxalis</i>	3	8	11	18	1.84	17	1,95	27
<i>Chinodoxa</i>	4	2	6	47	1.74	26	1,79	67
<i>Eranthis</i>	5	0	5	86	1.92	0	0,00	100
<i>Eremurus</i>	0	6	6	0	0.00	50	1,91	0
<i>Hyacinthella</i>	10	30	40	46	1.84	20	2,06	25
<i>Veratrum</i>	1	1	2	103	1.88	100	1,92	50
<i>Tulipa</i>	11	1	12	165	1.91	33	1,7	92
<i>Pelargonium</i>	10	1	11	101	1.83	4	1,13	91
<i>Iris</i>	3	2	5	157	1.86	82	1,74	60
<i>Leontice</i>	4	0	4	198	1.8	0	0	100
<i>Eminium</i>	4	6	10	156	1.89	122	1,72	40
<i>Ranunculus</i>	23	3	26	139	1.87	336	1,82	88
<i>Colchicum</i>	14	0	14	75	1.85	0	0	100
Toplam	2513	890	3403					
	Ortalama			94.00	1.87	74	1.78	68