

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDEMİK *TRIPLEUROSPERMUM HETEROLEPIS* ve *T. ZIGANAENSE*
(ASTERACEAE) TÜRLERİNİN ÜREME BİYOLOJİSİ ve POPÜLASYON İÇİ
GENOM BÜYÜKLÜĞÜ VARYASYONLARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rabia SAĞAN

TEMMUZ 2024

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDEMİK *TRIPLEUROSPERMUM HETEROLEPIS* ve *T. ZIGANAENSE*
(ASTERACEAE) TÜRLERİNİN ÜREME BİYOLOJİSİ ve POPÜLASYON İÇİ
GENOM BÜYÜKLÜĞÜ VARYASYONLARI

Rabia SAĞAN

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

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 02 / 07 / 2024

Tezin Savunma Tarihi : 30 / 07 / 2024

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Hüseyin İNCEER

Trabzon 2024

ÖNSÖZ

“Endemik *Tripleurospermum heterolepis* ve *T. ziganaense* (Asteraceae) Türlerinin Üreme Biyolojisi ve Popülasyon İçi Genom Büyüklüğü Varyasyonları” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen ve bilim insanı olma yolundaki ilk adımlarımı atarken kıymetli bilgileriyle ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan, hayatıma engin donanımıyla pusula olan hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin İNCEER’ e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, eğitim öğretim hayatımda katkısı olan tüm hocalarıma ve ortak olarak çalışmalar yürüttüğümüz ve tez çalışması süresinde de hiçbir yardımdan kaçınmayan hocam Sayın Prof. Dr. Fatih Şaban BERİŞ’ e ve tez çalışmalarımı yürütebilmem için ortam ve olanak sağlayan Prof. Dr. Ersan KALAY’ a teşekkür ederim. Tez çalışması sürecinde benden desteklerini esirgemeyen Biyoloji Bölümü’ndeki tüm değerli hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, doğduğum günden beri elimi hiç bırakmayan, hayatım boyunca aldığım tüm kararlarda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve her kararında arkamda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan annem Neşe ARPA ve babam İbrahim ARPA’ya, kardeşlerim Hilal ARPA, Tuğba ARPA, Nisa ARPA, Kayra Çağan ARPA ve ruhuyla hep yanıma olan Talha ARPA’ya teşekkür eder, minnettarlığımı sunarım. Akademik hayata adım atmam için en büyük desteğim olan ve başarılarımdan gurur duyarak benden inancını asla yitirmeyen eşim Eren SAĞAN’ a teşekkür ederim.

Bu çalışma; TÜBİTAK 122Z845 nolu proje ile desteklenmiştir. TÜBİTAK Yönetim Kurulu Başkanı’na ve değerli üyelerine teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Rabia SAĞAN

Trabzon 2024

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Endemik *Tripleurospermum heterolepis* ve *T. ziganaense* (Asteraceae) Türlerinin Üreme Biyolojisi ve Popülasyon İçi Genom Büyüklüğü Varyasyonları” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Hüseyin İNCEER’ in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 30/07/2024

Rabia SAĞAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Özeti.....	3
1.2.1. Asteraceae Familyasının Özellikleri.....	3
1.2.2. Asteraceae’de Üreme Biyolojisi Çalışmaları.....	4
1.2.3. Polen Canlılık Testi	6
1.2.4. Stigma Olgunluk Testi	7
1.2.5. Tohum Canlılık Testi ve Çimlenme İndeksi	8
1.2.6. Nuklear DNA Miktarı (Genom Büyüklüğü).....	9
1.2.7. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme Testi	10
1.3. İncelenen Türlerin Morfolojik Özellikleri	11
1.3.1. <i>Tripleurospermum heterolepis</i>	11
1.3.2. <i>Tripleurospermum ziganaense</i>	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Materyalin Toplanması	13
2.2. Polen Canlılık Testi	14
2.3. Stigma Olgunluk Testi	14
2.4. Tohum Canlılık Testi	14
2.5. Aken Çimlendirme ve Yaşama Başarısı	14
2.6. Nuklear DNA Miktarı	15
2.7. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme	15
3. BULGULAR.....	17

3.1. Polen ve Tohum Canlılık Testi	17
3.2. Stigma Olgunluk Testi	19
3.3. Aken Çimlendirme ve Yaşama Başarısı	19
3.4. Nuklear DNA Miktarı	22
3.5. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme	23
4. TARTIŞMA	24
5. SONUÇLAR.....	28
6. ÖNERİLER.....	29
7. KAYNAKLAR.....	30
ÖZGEÇMİŞ	



Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

ENDEMİK *TRIPLEUROSPERMUM HETEROLEPIS* ve *T. ZIGANAENSE* (ASTERACEAE) TÜRLERİNİN ÜREME BİYOLOJİSİ ve POPÜLASYON İÇİ GENOM BÜYÜKLÜĞÜ VARYASYONLARI

Rabia SAĞAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Hüseyin İNCEER
2024, 37 Sayfa

Bu çalışmada, endemik *Tripleurospermum heterolepis* (Freyn & Sint.) Bornmüller ve *T. ziganaense* İnceer & Hayırlıoğlu-Ayaz türlerinin üreme özellikleri ve popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonları ilk kez incelenmiştir. Üreme biyolojisi kapsamında polen canlılık, stigma olgunluk, tohum canlılık, aken çimlendirme ve yaşama başarısını belirleme çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca akım sitometrik tohum görüntüleme ile türlerin eşeyli veya eşeysiz üreyip üremedikleri araştırılmıştır. Popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonu akım sitometrik analizlerle belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, her iki türde de polen canlılığı ile tohum canlılığı %70'in, aken çimlenme oranı ise %90'ın üzerindedir ve embriyonik bitkilerin yaşama başarısı ise %100'dür. Stigma olgunluğu çiçeklenme öncesinde negatif, çiçeklenme döneminde ise iyi derecede pozitifdir. Akım sitometrik tohum görüntüleme sonucu, her iki türde de endosperm:embriyo (3C:2C) oranı 1,5'in altındadır. Diğer yandan, popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonu *T. heterolepis*'de %12 ve *T. ziganaense*'de %18'dir. Elde edilen bu veriler ile endemik *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin koruma biyolojisine yönelik çalışmalara katkılar sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Üreme biyolojisi, Koruma biyolojisi, Akım sitometri, Asteraceae

Master Thesis

SUMMARY

REPRODUCTIVE BIOLOGY AND WITHIN POPULATION GENOME SIZE VARIATIONS OF ENDEMIC *TRIPLEUROSPERMUM HETEROLEPIS* AND *T.* *ZIGANAENSE* (ASTERACEAE) SPECIES

Rabia SAĞAN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin İNCEER
2024, 37 Pages

In this study, the reproductive characteristics and within population genome size variations of the endemic *Tripleurospermum heterolepis* (Freyn & Sint.) Bornmüller and *T. ziganaense* İnceer & Hayirlioglu-Ayaz species were examined for the first time. Within the scope of reproductive biology, studies have been carried out pollen viability, stigma maturity, seed viability, achene germination and survival success. Additionally, it was investigated whether the species reproduced sexually or asexually using the flow cytometric seed screening method. Flow cytometry was also performed to determine within population genome size variation. According to the data obtained, pollen viability and seed viability in both species are over 70%, achene germination rate is over 90%, and the survival rate of embryonic plants is 100%. Stigma receptivity is negative in the pre-flowering period and well positive in the flowering period. According to the data obtained as a result of flow cytometric seed screening analyses, the endosperm:embryo ratio is below 1.5 in both species. Within population genome size variation is 12% in *T. heterolepis* and 18% in *T. ziganaense*. With these data obtained, contributions were made to studies on the conservation biology of species.

Key Words: Reproductive biology, Conservation biology, Flow Cytometry, Asteraceae

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. a) <i>Tripleurospermum heterolepis</i> ' in genel görünümü, b) <i>Tripleurospermum ziganaense</i> ' nin genel görünümü. (Fotoğraf; a: Prof. Dr. Hüseyin İNCEER, b: Rabia SAĞAN.....	12
Şekil 2. <i>T. heterolepis</i> ve <i>T. ziganaense</i> 'nin polen canlılığı.....	17
Şekil 3. <i>Tripleurospermum heterolepis</i> ' in polen (a-c) ve tohum canlılığı (d). a) Asetokarmin, b) TTC, c) Safranin, d) TTC. (1: canlı polen taneleri, 2: cansız polen taneleri. Ölçekler; a ve c: 50 µm, b: 20 µm, d: 0.2 mm)	18
Şekil 4. <i>Tripleurospermum ziganaense</i> ' nin polen (a-c) ve tohum canlılığı (d). a) Asetokarmin, b) TTC, c) Safranin, d) TTC. (1: canlı polen taneleri, 2: cansız polen taneleri. Ölçekler; a ve c: 50 µm, b: 20 µm, d: 0.5 mm)	18
Şekil 5. H ₂ O ₂ stigma olgunluk testi. a) <i>T. heterolepis</i> , b) <i>T. ziganaense</i> . (Ölçekler; a ve b: 0.5 mm)	19
Şekil 6. <i>Tripleurospermum heterolepis</i> 'de aken çimlendirme ve kültüre etme	20
Şekil 7. <i>Tripleurospermum ziganaense</i> 'de aken çimlendirme ve kültüre etme	21
Şekil 8. <i>Tripleurospermum heterolepis</i> 'in akım sitometrik histogramı	22
Şekil 9. <i>Tripleurospermum ziganaense</i> 'nin akım sitometrik histogramı	22
Şekil 10. <i>Tripleurospermum heterolepis</i> 'in akım sitometrik tohum görüntüleme histogramı.....	23
Şekil 11. <i>Tripleurospermum ziganaense</i> 'nin akım sitometrik tohum görüntüleme histogramı.....	23

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. İncelenen türlerin lokalite bilgileri	13
Tablo 2. Yapılan çalışmalara ait verilerin özeti.....	27



SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>AFLP</i>	: Amplified Fragment Length Polymorphism
<i>AOSA</i>	: Association of Official Seed Analysis
<i>CV</i>	: Varyasyon katsayısı
<i>DNA</i>	: Deoksiribonükleik asit
<i>FCM</i>	: Flow Cytometry
<i>FISH</i>	: Fluorescent <i>In Situ</i> Hybridization
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
<i>IUCN</i>	: International Union for Conservation of Nature
<i>ISSR</i>	: Inter-Simple Sequence Repeat
<i>Mbp</i>	: Mega baz çifti
<i>KTUB</i>	: Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu
<i>pg</i>	: Pikogram
<i>vd</i>	: Ve diğerleri

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitkilerde üreme, genetik olarak kontrol edilen, yapısal ve hücrel değişiklere yol açan birçok biyokimyasal süreçleri içerir (Franklin-Tong, 1999). Bitkilerde üreme biyolojisi ise eşeyli ve eşeysiz üreme mekanizmaları, tozlaşma, döllenme, gen akışı, genetik çeşitlilikleri ve bunun popülasyon içi ve popülasyonlar arası etkisini konu alır (Ünal, 2006). Üreme sonucunda gerçekleşen gen akışı ve genetik varyasyonlar, meydana gelen bireylerde çeşitliliğe sebep olmaktadır. Bu çeşitlilik, çevresel etkiler, ekolojik baskılar ve zorlu habitat koşullarında bitkilere, hayatta kalmaları ve neslinin devamlılığını sağlaması için adaptasyon özelliği kazandırır. Genetik varyasyonun azalması ise tür popülasyonunu yok olma riskiyle karşı karşıya bırakır. Küçük popülasyona sahip çoğu nadir türlerde belirlenen düşük düzeydeki genetik çeşitlilik bu ifadenin açıkça bir kanıtı olarak sunulabilmektedir. Mevcut bitki çeşitliliğini muhafaza edebilmek ya da arttırabilmek adına özellikle endemik ve tehdit altındaki türlerin üreme biyolojisini anlamak, etkili koruma stratejileri geliştirmek ve türlerin sürdürülebilirliğini sağlamak ekolojik açıdan önem taşımaktadır (Primack, 1980; Saroj, 2005).

Günümüzde bitki çeşitliliği, küresel iklim değişikliği, istilacı türler, çevre kirliliği, habitat kaybı, genetik varyasyonun azalması gibi biyotik, abiyotik ve antropojenik etkilerle azalmaktadır (Thomsen & Willerslev, 2015). Özellikle nesli tehlike altında olan bitki türlerinin sayısı her geçen gün daha da artmaktadır. Bu olumsuz eğilimi azaltmak için birkaç olası koruma stratejileri mevcuttur. Botanik bahçeleri, tohum bankaları, tabiat parkları gibi *in situ* ve *ex situ* koruma yöntemleri kullanılarak türlerin ortadan kalkması engellenebilmektedir. Bu yöntemler özellikle nesli tehlike altındaki endemik bitkilerin devamlılığını sağlamada etkili çözüm yollarındandır (Atasagun, 2012). Fakat, bu koruma stratejileri türlerin her ne kadar hayatta kalma şansını devam ettirse de yöntemlerdeki çeşitli kısıtlamalar, türlerin kendi habitatlarındaki gibi yaşamsal sürecini tam anlamıyla sağlayamamaktadır. Buda türlerin doğal formlarını korumada, genetik çeşitliliğin yok olmasını engellemede ve yaşamsal döngülerinin devamlılığı için uygun koşulların oluşmasında bir engeldir. Bu nedenle türlerin üreme biyolojisini ortaya koymak, genetik kaynaklarını koruyarak doğal ortamındaki yaşanabilirliğini arttırmaktadır. Türlerin üreme başarisına etki eden basamakları araştırmak, üreme stratejilerini belirlemek,

sürdürülebilirliği sağlamak ve korumak için gereklilik arz etmektedir. Tozlaşma, dölleme, tohum ve meyve oluşumu gibi birçok biyotik mekanizmaları konu alan üreme biyolojisi, özellikle tehdit altındaki endemik türler için koruma stratejileri geliştirmede önemli bir kaynaktır. Bu nedenle, üreme biyolojisi çalışmalarının giderek hız kazanması sadece türlerin neslinin devamlılığı için değil, bu kaynakların korunması içinde gereklidir. Özellikle küçük popülasyonlara sahip bitkilerin genetik yapısını düzenleyen tozlaşma ve üreme sistemlerinin anlaşılması, bitkilerin korunarak sürdürülebilirliğini sağlamak açısından oldukça önem taşımaktadır. Bununla birlikte, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonların azalması durumunda, tür yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalacağından sadece üreme biyolojisi değil, türlerin genetik çeşitliliğinin de ortaya konulması gerekmektedir.

Dünya üzerinde endemik ve tehlike altındaki türler başta olmak üzere bitki rezervlerini korumak için çeşitli uluslararası anlaşmalar (Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi), koruma politikaları (Koruma Kanunları) ve kuruluşlar vardır. Bunlar arasında nesli tükenmekte ve tehlike altında olan türleri belirlemek için 1948 yılında kurulan Uluslararası Doğayı Koruma Birliği (International Union for Conservation of Nature: IUCN), korumaya yönelik çeşitli çalışmalar gerçekleştirmiştir. IUCN, bu türleri belirlemede, yok olma tehlike derecesine göre kategorilendirme sistemini kullanmıştır. IUCN ölçütlerine göre; doğada yaşamasını devam ettiren ve hakkında yeterince bilgi bulunan bitki türleri, Çok Tehlikede (CR, Critically Endangered), Tehlikede (EN, Endangered), Duyarlı (VU, Vulnerable), Tehdite Yakın (NT, Near Threatened) veya Düşük Riskli (LC, Least Concern) olarak tanımlanan tehdit kategorilerinde yer alırlar. Bunlardan CR, EN ve VU koruma gerektiren kategorilerdir (Atasagun, 2012). Ülkemizde ise IUCN kategorilerinde birçok endemik ve nesli tehlike altında olan türlerimiz bulunmaktadır. Bu türler arasında çiçekli bitkilerin en gelişmiş familyası olan Asteraceae da yer almaktadır.

Asteraceae familyası yaklaşık 1600-1700 cins ve 24000-30000 tür içermektedir ve angiospermilerin en büyük familyalarındandır (Funk vd., 2009). Asteraceae familyasının Anthemideae tribusunda yer alan *Tripleurospermum* Sch. Bip. cinsi, yaklaşık 40 tür içerir (Oberprieler vd., 2007). Bu cinsin, ülkemizde 33 türü bulunmaktadır ve bunların 17'si endemiktir (İnceer vd., 2012; Tekşen vd., 2022). Ülkemizde, "Akpapatya" olarak da bilinen bu cinsin (İnceer vd., 2012), endemizm oranı yaklaşık %52'dir ve birçok üyesi, çeşitli antropojenik faktörler nedeniyle yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır (Ekim vd., 2000).

Tripleurospermum heterolepis (Freyne & Sint.) Bornmüller ve *Tripleurospermum ziganaense* İnceer & Hayırlıoğlu-Ayaz ülkemiz için endemik olan türlerdir. Bu türler aynı

zamanda IUCN Kırmızı Liste Kategorileri ve Ölçütlerine göre, CR kategorisinde yer alırlar, dolayısıyla nesli tehlike altında olan türlerdir (İnceer & Hayırlıoğlu-Ayaz, 2008; İnceer, 2015). Diğer yandan, *Tripleurospermum* cinsinde üreme biyolojisine yönelik yapılan çalışmalar sadece *T. inodorum* (L.) Schultz Bip. türü ile sınırlıdır (Kay, 1994). Dolayısıyla, gerek *T. heterolepis* gerekse *T. ziganaense* türleri üzerinde üreme biyolojisine yönelik şu ana kadar herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Ayrıca, türlerin genom büyüklüğü bilinmekle birlikte (İnceer vd., 2018), popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonlarını belirlemeye yönelik herhangi bir çalışma henüz yapılmamıştır. Bu tez çalışması ile ilk kez, *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin bazı üreme özellikleri (polen canlılığı, stigma olgunluğu, aken çimlendirme, üreme biçimi) ve popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonları ile bunların korumadaki öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

1.2. Literatür Özeti

1.2.1. Asteraceae Familyasının Özellikleri

Asteraceae familyası, angiospermlere ait Asterales takımında bulunmaktadır. Familya yaklaşık olarak 1700 cins ve 25000 türle temsil edilmektedir (Batista & Souza, 2017). Asteraceae, çiçekli bitkilerin en büyük familyası olma özelliğinin yanı sıra kapitulum adı verilen özel bir çiçek durumuna sahip olmasıyla da diğer familyalardan ayrılır. Kapitulum, birden fazla sesil çiçeğin genişlemiş reseptakulum üzerinde sıkı bir şekilde yerleşmesiyle oluşan rasemoz infloresens şeklidir. Etrafı çiçek kümelerini korumak için fillarilerden oluşmuş bir involukrum ile çevrilir. Bazı taksonlarda brakte görülürken, genel olarak Asteraceae familya üyelerinde hipantiyum bulunmaz. Periyantında kaliks ve korolla şeklinde farklılaşma görülmektedir. Fakat kaliks indirgenerek tüy şeklinde pappus denilen yapıya dönüşmüştür. Korolla ise bilabiat, tubulat (tüpsü) ya da ligulat (dils) gibi değişik şekiller almıştır. Kapitulumda, merkezde bulunan çiçeklere tüpsü, çevresinde bulunanlara ise dils denilmek üzere iki tip çiçek bulunmaktadır. Tüpsü çiçekler çoğunlukla hermafrodit, nadir olarak staminat ya da sterildir (kısırdır). Dils çiçekler ise hermafrodit, pistillat ya da sterildir. Kapitulum eşey durumuna göre homogamdır, yani tüm çiçeklerin iki eşeyli olma durumudur ya da heterogamdır, yani pistillat çiçekler ile iki eşeyli çiçekleri birlikte bulundurma durumudur. Stamenler 4 - 5 adet, dairesel, alternipetal, genellikle singeneziktir. Pistil tek, ovaryum alt durumlu, iki karpelli ve bir lokulusludur. Asteraceae'nin meyvesi

aken'dir. Akenin perikarp kısmı kuru ve sert olduğu için açılmayan kuru meyveler sınıfında yer alır ve tek tohumludur (Tadesse, 2014; Ustasüleyman vd., 2021; Aksu-Kalmuk, 2018).

1.2.2. Asteraceae'de Üreme Biyolojisi Çalışmaları

Bitkilerde üreme, çeşitliliğin ve devamlılığın sağlanması için hayati bir öneme sahiptir. Üreme biyolojisi ise türlerin çeşitliliğini ve devamlılığını sağlayan nesillerin oluşumunda yer alan yapılar, mekanizmalar ve biyotik etkileşimlerle ilgilidir (Tandon vd., 2020). Bu nedenle, özellikle nesli tehlike altında olan endemik türlerin üreme biyolojisini ortaya koymak, etkili koruma stratejileri geliştirmek için önemli bir unsur olarak kabul edilmektedir. Nesli tehlike altında olan endemik 561 (IUCN, 2022) tür içeren Asteraceae familyası da bu kapsamda araştırmacıların odak noktası olmuştur. Literatür verilerine göre, familyada üreme biyolojisine yönelik yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmektedir;

Kay (1994), *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. türünde fenoloji, yaşam öyküsü, üreme kapasitesi, tohum canlılığı ve aken çimlenmeleri üzerine çalışmalar yapmıştır.

Yankova-Tsvetkova vd. (2018), bir Bulgar endemiği olan *Centaurea achтарovii* Urum. türünün üreme biyolojisini çalışarak türü korumaya yönelik çeşitli yöntemler geliştirmişlerdir.

Houliston ve Chapman (2004) *Hieracium pilosella* L. üzerinde üreme biyolojisi ve genom çalışmaları yaparak tür popülasyonunun genetik çeşitliliğinde eşeyli üremenin önemini ortaya koymuşlardır.

Grombone-Guaratini vd. (2004), *Bidens* L. cinsine ait üç farklı türde üremenin en temel basamaklarından biri olan tozlaşma biyolojisi üzerine çalışmalar yapmıştır.

Jawhari vd. (2022), *Anacyclus pyrethrum* L. türünün iki varyetesi arasında üreme biyolojisi, tozlaşma ve polen morfolojisi karşılaştırması yapmıştır.

Delbón vd. (2017), Arjantin'in nadir türlerinden olan Asteraceae familyasına ait *Flourenzia* cinsinin altı türü üzerinde morfoanatomik ve tohum çimlenmesini kapsayan üreme çalışmaları yaparak, bu türlerin korunmasına yönelik stratejiler geliştirmenin önemini vurgulamışlardır.

Wang vd. (2023), Taihang Dağları'nın endemik bir bitkisi olan *Opisthopappus* C. Shih cinsinin iki türü üzerinde, çiçek fenolojisi, üreme ve tozlaşma biyolojisi çalışmalar yaparak, elde edilen sonuçların habitatta bulunan diğer türlere de ışık tutmasını sağlamışlardır.

Atasagun ve Aksoy (2018), ülkemizde bulunan ve endemik bir tür olan *Centaurea amaena* Boiss ve Balansa için popülasyon yapısını, üreme sistemini konu alan otoekolojisini ve koruma biyolojisini çalışarak, ülkemizde biyolojik çeşitliliğin korunmasına yönelik yapılan çalışmaların önemine dikkat çekmiştir.

Sharma vd. (2023), *Helianthus annuus* L. türünde stigma alıcılığını ve gerçekleşen kimyasal süreçleri inceleyerek, bu süreçte görev alan enzimlerin, flavonoidlerin, reaktif oksijen türlerinin aktif rollerini vurgulamaktadır.

Qureshi vd. (2009), Pakistan’da bulunan Asteraceae familyasına ait *Crepis* L., *Hieracium* L., *Lactuca* L., *Scorzonera* L., *Sonchus* L., *Taraxacum* F. H. Wigg. cinsleri üzerinde yaptığı polen çalışmaları ile popülasyon büyüklüğünün polen canlılığı ile bir korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur.

Grubbs ve Wynes (2015), endemik *Helianthus schweinitzii* Torr. ve A.Gray tohum canlılığı ve gelişimi üzerine çalışmalar yaparak üreme sürecini iyileştirmeye yönelik metotlar geliştirmişlerdir.

Byers (1998), *Eupatorium* cinsine ait iki türün popülasyonlarında, polen miktarı ve kalitesine bağlı olarak oluşan tohumların popülasyon büyüklüğünü nasıl etkilediği üzerinde çalışarak üreme stratejilerini betimlemiştir.

Shurupova vd. (2015), Kuznetsk Alatau dağında yaptığı çalışmada 4 nadir *Saussurea* türünün üreme biyolojisini çalışmak üzere tohum çimlenme ve yenilenme başarısını test etmiş ve bu türlerin doğal yaşama alanlarında varlıklarını sürdürebilmeleri için hızlı ve etkili bir şekilde koruma önlemlerinin alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

Yankova-Tsvetkova vd. (2016), nesli tehlike altındaki endemik bir tür olan *Arnica montana* L. üzerinde üreme çalışmaları yaparak türün üreme stratejisini ortaya koymuştur. Yaptığı embriyolojik incelemeler, polen canlılık ve tohum canlılık testleri ile türün üreme kapasitesinin nispeten başarılı olduğu sonucuna varmıştır.

Black vd. (2019), bir alpin bitkisi olan *Cineraria erodioides* DC. üzerinde tozlaşma ve üreme çalışmaları yaparak, yüksek rakımlar için tozlaştırıcıların büyük bir rolü olduğunu ve sonucunda meydana gelen cypselaların (akenlerin) oranında rakıma bağlı olarak büyük bir farklılık olduğunu göstermiştir.

Dafni ve Firmage (2000), Asteraceae dahil olmak üzere birçok familya için polen canlılığı ve ömrü üzerine kapsamlı bir çalışma yaparak canlılığı test etmede kullanılan metotların avantaj ve dezavantajlarını karşılaştırıp, polen üzerinde evrimsel ve ekolojik çıkarımlarda bulunmuştur. Ayrıca çalışmada polen canlılığına etki eden parametreler

değerlendirilerek, polen canlılığının terminolojik karşılığının ve öneminin de üzerinde durulmuştur.

Liu vd. (2021), *Nouelia insignis* Franch. türünün çiçek fenolojisi, çiçek biyolojisi, tohum üretimi ve tozlaştırıcıları üzerinde, 6 yıl boyunca bu parametreleri takip eden bir çalışma ortaya koymuştur. Sonucunda iklim değişikliğinin üreme biyolojisi üzerindeki etkilerini açığa çıkararak tehdit altındaki türler için ciddi korunma önemlerinin alınması gerektiğine vurgu yapmıştır.

Hao vd. (2015), Kuzey Amerika’da istilacı bir tür olan *Ambrosia artemisiifolia* L.’nin yaşama öyküsünü aydınlatmak amacıyla, üreme biyolojisi çalışmaları yapmış ve araştırmaları sonucunda türün istilacı özelliğini azaltmak için neler yapılabileceği konusuna cevap bulmuşlardır.

Ibañez vd. (2017), birçok bölgede tıbbi ve gıda bitkisi olarak kullanılan *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. ve Endl.) H. Robinson türünün sıcaklık gibi çevresel koşullar altında, kapitulum gelişimi ve çiçek yapısı üzerine yaptığı morfolojik ve anatomik inelemler dışında stigma olgunluk, polen canlılık, tohum ve meyve üretimi gibi parametreler üzerinde de araştırmalar yapmıştır.

Atlagić vd. (2012), ayçiçeği, şeker pancarı, mısır, sarımsak, limon gibi çeşitli bitki türlerinde polen canlılığını belirlemek için Alexander boyama metodunun başarılı bir şekilde uygulanabileceğini ve polen çimlenmesi, polen tüpünün büyümesi, döllenme gibi biyolojik olayların incelenmesinde floresan mikroskopunun kullanılabileceğini, yaptığı çalışma ile ortaya koymuştur.

1.2.3. Polen Canlılık Testi

Lincoln vd. (1998), canlılığı; yaşayabilme, büyüme, gelişme ve çimlenme gibi biyokimyasal ve biyofiziksel olayları gerçekleştirebilme yeteneği olarak tanımlamıştır. Bunlara ilave olarak çeşitli bilim adamları *in vitro* olarak çimlenen polenler, boyamayı kabul eden polenler ve döllenme sonucu verimli bir tohum oluşumunda görev alan polenler için de canlılık terimini kullanmışlardır (Niesenbaum, 1992; Nyman, 1992; Lindgren vd., 1995).

Polen canlılığını test etmek için çeşitli metotlar mevcuttur. Bu metotlar enzim aktivitesi, plazmalemma (polen zarı) yapısı, sitoplazma içeriği gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu nedenle yöntem seçimi türe, amaca ve metot ile sonuç arasındaki ilişkinin kurulmasına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Fakat hiçbir yöntem, polenin sürdürülebilir canlılığı

olduğunu, çimlenebileceğini ya da bir bitkiyi dölleyebileceğini kesin olarak göstermez, sonuçlar ile sadece bir çıkarımda bulunulabilir (Heslop-Harrison, 1992).

Temel olarak polen canlılığını test etmede polenin kimyasal iletkenliği, boyama teknikleri, *in vitro* ve *in vivo* çimlenme, protein içeriği, tohum oluşturma kapasitesi gibi parametreler kullanılmaktadır. Bunlar arasında, hızlı, etkili ve daha ucuz olması nedeniyle en çok tercih edilen yöntem boyama teknikleridir. Alexander's stain, Asetokarmin, Safranin, Orsein, Aniline blue, TTC (2,3,5-trifenil tetrazolyum klorür), IKI (iyotlu potasyum iyodür), MTT (3(4,5-dimetiltiazol-2) 2,5-difeniltetrazolyum bromür), FDA (fluorescein diacetate) ise bu boyalar arasında en çok kullanılanlardır. Bu metotlarının prensibi ise polenin genomik yapısına, polende bulunan aktif enzim reaksiyonuna veya sitoplazma içeriğinde bulunan organik bileşiklerle verdiği tepkimelere bağlıdır (Stanley & Linskens, 1974; Abdul-Baki, 1992; Dafni & Firmage, 2000).

1.2.4. Stigma Olgunluk Testi

Stigma, polen tanesini tanıyan ve polen çimlenmesi için substrat sağlayan alıcı hücreler içerir (Dafni, 1992). Bu hücreler sayesinde stigma, canlı ve kendisine uyumlu olan polenin çimlenmesine ve çimlenen polenin ovaryumu döllemesine olanak sağlar. Pistilin bu özelliği stigma alıcılığı olarak kabul edilmektedir. Bu durum bitkinin yaşama döngüsünü devam ettirebilmesi için, polen kabulünden tohum oluşumu aşamasına geçebilme sürecinde kilit bir noktadır. Tozlaşma denilen bu süreçte, polen kabulünün yani alıcılığın aktif olabilmesi için stigmanın yeterli olgunluğa erişmesi gerekir.

Gelişme aşamasında, stigmada karbonhidrat, lipid, protein ve enzim gibi organik ve inorganik bileşiklerde birikim meydana gelir. Bahsi geçen moleküller sayesinde polen-stigma uyumu, polenin stigma yüzeyine yapışması, hidrasyonu gibi biyokimyasal süreçler gerçekleşir (Sharma & Bhatla, 2014). Bu bileşiklerin varlığı olgunlaşma sürecinin gerçekleştiğinin de bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Stigma alıcılığı (olgunlaşması), ilgili moleküllerin niteliksel ve niceliksel analizleri ile karakterize edilmektedir. Bu moleküller arasında, peroksidaz; polen-stigma etkileşimi, polen çimlenmesi, patojen saldırısına karşı koruma, polen tanıma, hücre duvarı oluşumu, stres yanıtları gibi hayati birçok role sahip olduğu için en çok tercih edilen bileşik olmuştur (McInnis vd., 2006; Sharma vd., 2023). Peroksidaz, pistilin olgunlaşmasıyla birlikte papillalardaki aktivitesini arttırmaktadır. Bu sayede enzim analizi ile, aktif stigma alıcılığı ve türün gelişim aşaması ile

ilgili bilgi sağlanmaktadır (Dafni & Moués 1998). Enzim analizinde, kolay uygulanabilirliği ve peroksidaz belirteci olması nedeniyle reaktif bir oksijen türü olan hidrojen peroksit tercih edilmektedir. H_2O_2 , papillalarda bulunan peroksidazlarla etkileşime girdiğinde çıplak gözle görülebilen hava kabarcıklarına ve stigma yüzeyinde sarı-kahverengi bir renk oluşumuna neden olur. Bu durum olgunluğa erişmiş stigmanın polen kabulüne hazır olduğunun açıkça bir göstergesidir.

Stigma olgunluğunu test etmek için peroksidaz analizi dışında α naftil asetat (esteraz), Baker's metodu (dehidrogenaz), benzidin- H_2O_2 , Macherey-Nagel Peroxtesmo Ko (esteraz) gibi çeşitli teknikler de mevcuttur (Dafni, 1992; Dafni & Moués 1998; Chen vd., 2013; Soares vd., 2018).

1.2.5. Tohum Canlılık Testi ve Çimlenme İndeksi

Tohum oluşumu, bitki üreme sisteminin son ve en kritik basamağıdır. Özellikle nesli tehlike altında olan endemik türler, mevcut popülasyonunu koruyabilmeleri için, uygun koşullarda çimlenebilen, canlı bir tohum meydana getirme potansiyeline sahip olmalıdır. Fakat oluşan her tohum canlı bir embriyoya sahip olmayabilir. Bu da tohumun yeni bir bitki oluşturma yetisinin olmadığını göstermektedir.

Bitkilerin canlı tohum oluşturma kapasitesi, üreme başarısının değerlendirilmesinde kullanılan önemli parametreler arasında yer almaktadır (Bu vd., 2008; Kırmızı vd., 2011). Bu nedenle tohum canlılığını test etmek için çeşitli elektromanyetik, kimyasal, biyolojik ve fizyolojik metotlar geliştirilmiştir. X-ray, ezme metodu, çimlenme ve TTC bu yöntemler arasında yer almaktadır (Riebkes vd., 2015). Tohumların fizyolojik canlılığı, optimum koşullarda ve kontrollü şartlar altında yapılan çimlenme testleriyle analiz edilmektedir. Bu testlerin temel prensibi tohumun bitki oluşturmak için, belirli bir zaman aralığında ve optimum şartlardaki fizyolojik potansiyeline dayanmaktadır. Çimlenme oranının yeterli seviyede olması bitki akıbeti hakkında önemli veriler sağlamaktadır. Fakat tohumlardaki dormansinin kırılabilmesi için yeterli çimlenme koşulları sağlanmazsa (özellikle dormansi dönemi bilinmeyen yeni türler için) çimlenmemiş tohumların canlılığı değerlendirilirken tutarsız sonuçlarla karşılaşılabilir (Gosling, 2003; AOSA, 2012).

Çimlenme testlerinin tek başına, tohum canlılığı hakkında kesin bir bilgi verdiğini söylemek pek mümkün değildir. Dolayısıyla bu testler, tohum canlılığını ortaya koyan diğer yöntemlerle desteklenmelidir. Hızlı ve etkin sonuç veren TTC ise tohum canlılığı için en çok

tercih edilen yöntemdir. TTC, dehidrojenaz enzimini oksitleyerek canlı dokularda renk oluşumunu sağlayan redoks bir kimyasal bileşiktir. Boyama sonucu oluşan farklılıklar, morfolojik olarak dokuların canlı ve cansız olarak sınıflandırılmasını sağlar. Bu da TTC'nin tohum canlılığını analiz etmede daha net ve hızlı bir yöntem olarak seçilmesini sağlamaktadır (Araújo, 2019; Quintana vd., 2019). TTC testi çimlendirme çalışmalarıyla ilişkilendirildiğinde elde edilen veriler daha güvenilir ve kesin sonuçlar sağlamaktadır. Bu testler sayesinde özellikle nesli tehlike altında, endemik olan türlerde üreme başarısı değerlendirilerek gerekli koruma stratejilerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır.

1.2.6. Nuklear DNA Miktarı (Genom Büyüklüğü)

Nuklear DNA miktarı terimi, kopyalanmamış haploid genomdaki DNA içeriği yani holoploid genom büyüklüğü ya da kromozom setinde bulunan DNA içeriği yani temel genom büyüklüğü olarak iki şekilde ifade edilebilmektedir. Monoploid (Cx), holoploid (C) ve temel genom büyüklüğü (x) nuklear DNA miktarını ifade eden terimler olarak kabul edilir ve 'C-değeri' şeklinde gösterilmektedir. Daha net bir ifade ile C-değeri somatik DNA içeriğini ifade ederken, Cx-değeri 2C değerinin ploidi seviyesine bölümü sonucudur. Bu terim ilk olarak Swift (1950) tarafından kullanılmaktadır (1 pikogram 10^{-12} gr., 1 pikogram 978 Mbp; Doležel vd., 2003; Loureiro, 2007).

C-değeri (nuklear DNA miktarı) organizmanın biyolojik ve fizyolojik karakterleri arasındaki bağlantıyı ortaya koyan önemli bir çeşitlilik karakteridir. Son çalışmalar, nuklear DNA miktarının hücre yaşama döngüsü, üreme stratejisi, tohum kütlesi, yaprak yüzey alanı, büyüme ve gelişme gibi fonksiyonel karakterler üzerinde etkili olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar C-değerinin filogeni ve genom çeşitliliği ile de yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Özellikle tür içi genom büyüklüğü varyasyonu üzerine yapılan çalışmalarda, karakteristik ve sabit olarak kabul edilen C-değerinin değiştiği tespit edilmiştir. Tür içi varyasyon olmasına rağmen türler arasında spesifik özelliği olan C-değeri, biyoçeşitlilik, ekoloji, sistematik, evrim gibi bitki biliminin birçok farklı dalında yararlanılan önemli bir karakterdir (Cao vd., 2014; Bourge vd., 2018).

DNA miktarının belirlenmesinde kimyasal, fiziksel birçok argüman bulunmasına rağmen yöntemin kolay hazırlanabilirliği, hızlı ve etkili sonuç vermesi, DNA içeriğindeki küçük farklılıkların doğru bir şekilde tespiti, akım sitometrisini daha sık kullanılan bir yöntem haline getirmektedir. Buna rağmen bitkiler aleminde gimnospermiler için %41,

angiospermiler için ise sadece %3,1'lik genom büyüklüğü verisi kaydedilmiştir. Bu oranlar, bitki genom büyüklüğü hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulduğunun bir kanıtı olarak görülebilmektedir (Pellicer & Leitch, 2014; Pellicer vd., 2018).

1.2.7. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme Testi

Eşeyli üremenin sonucunda meydana gelen tohum, günümüz florasına hakim olan kapalı tohumluların evrimsel süreçteki başarısına büyük katkı sağlamaktadır. Bu başarısının temel nedeni grubun belirleyici bir özelliği olan çift döllenme olayıdır (Doll & Ingram, 2022). Çift döllenme olayında, iki sperm hücresi iki dişi üreme hücresini eş zamanlı olarak döller (Sprunck, 2020). Bu olay sonucunda, birkaç istisna dışında ise tohumlar diploid ($2n$) bir embriyo ve triploid ($3n$) bir endosperme sahip olmaktadır (Sliwinska vd., 2022). Kapalı tohumlular değişen biyotik ve abiyotik faktörlere karşı böyle bir mekanizma geliştirerek bu zamana kadar doğadaki hakimiyetlerini sürdürmüşlerdir.

Bitki aleminde eşeyli üreme sistemi yaygın olarak görülmekle birlikte, ekstrem şartlara adaptasyonu sağlayan apomiksis, partenogenez, sporla üreme gibi çoklu üreme yolları mevcuttur. Bu kompleks üreme sistemi bitki çeşitliliğine ve evrimsel güce neden olmasıyla araştırmacıların merak konusu haline gelmiştir. Fakat eşeyli yolla veya apomiksis, partenogenez gibi eşeysiz üreme yoluyla üretilen tohumları ayırt etmeye yönelik yöntemler yetersiz kalmıştır (Kron vd., 2007). Bu alanda ilerleme sağlayan önemli bir adım, akım sitometrinin icadından sonra 2000'lerde Matzk vd. tarafından atılmıştır (Matzk vd., 2000). Akım sitometrik tohum görüntüleme (FCSS) olarak adlandırdıkları yöntem sayesinde, tohumlardaki çift döllenmenin sonucu olan endosperm ($3C/3x$):embriyo($2C/2x$) ploidi farklılığından yararlanarak, çeşitli üreme yollarını tespit etmeyi başarmışlardır (Krahulcová & Suda, 2006).

FCSS özellikle bitkilerde meydana gelen apomiksisin anlaşılmasına yönelik basit, etkili bir yöntemdir ve hata oranı diğer tohum görüntüleme yöntemlerine göre oldukça düşüktür (Kolarčík vd., 2018). Tohum dokularını parçalara ayırmaya gerek kalmadan Asteraceae'de dahil olmak üzere birçok bitki türünde üreme yolunu belirlemek için hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak literatüre yerleşmiştir (Pregoraro, 2020).

1.3. İncelenen Türlerin Morfolojik Özellikleri

1.3.1. *Tripleurospermum heterolepis*

İki yıllık, 20-30 cm. Tabandan çıkan gövdeler çok sayıda, çiçek durumunun altında dallanmış. Yapraklar 2-3-pinnatissek; yaprak lobları lanseolat-filiform, kalınca uçlarda beyaz-mukronat. Kapitulum çok sayıda, radiat, ligullar hariç 6-10 mm genişliğinde, yoğun korimbus, kısa veya uzun pubescent pedunkullu. Fillariler üçgenimsi-akut ya da obtus, bütün hepsi beyazımsı zarsı kenarlı, tüysüz. Ligullar 3,5-6,5 mm; tüpsü çiçeklerin korolla lobları uçlarda salgı bezli. Reseptakulum ovoid ya da yarım küresel. Akenler 1,2-1,5 x 0,3-0,5 mm, ters piramit şeklinde, müsilaşsız, anterior tuberkulat-ruguloz, posterior 3 damarlı, damarlar çok ince, akut, beyaz, araları tuberkulat-ruguloz; korona çok küçük, kenarda, beyaz, dişli, yaklaşık akenin 1/8-1/10' nu kadar (İnceer, 2015; Şekil 1a).

Fenoloji: Haziran - Temmuz.

Habitat: Çayırılık alanlar, yol kenarları

Türkiye'deki yayılışı: Doğu Karadeniz Bölgesi

1.3.2. *Tripleurospermum ziganaense*

İki yıllık, 25-30 cm. Gövdeler çok sayıda, dallanmamış veya çok az dallanmış. Yapraklar 1-3-pinnatissek; yaprak lobları kalın, linear-oblong ya da linear, yoğun pubescent tüylü. Kapitulum bir, uçta, ligullar hariç 0,9-1,4 cm genişliğinde, radiat, çıplak veya puberulent pedunkullu. Dıştaki fillariler üçgenimsi-akut, seyrek pubescent tüylü, içtekiler oblong-obtus, tüysüz, kenarları kahverengi veya beyaz zarsı. Reseptakulum koniksi ya da ovat-koniksi. Ligullar 9-14 mm uzunluğunda; tüpsü çiçeklerin korolla lobları uçlarda salgı bezsiz. Akenler oblong, kıvrık, 1,9-2 x 0,75-1,25 mm, olgunlukta kahverengi, belirgin müsilaşlı, anterior tuberkulat-ruguloz, posterior üç damarlı, damarlar kalınlaşmış, beyaz, araları dar; korona lobut, beyaz, akenin 1/3'ü kadar (İnceer ve Hayırlıoğlu-Ayaz, 2008; Şekil 1b).

Fenoloji: Mayıs - Haziran

Habitat: Açık yerler, kayalık çalılıklar, yol kenarları

Türkiye'deki yayılışı: Doğu Karadeniz Bölgesi



Şekil 1. a) *Tripleurospermum heterolepis*'in genel görünümü, b) *Tripleurospermum ziganaense*'nin genel görünümü. (Fotoğraf; a: Prof. Dr. Hüseyin İNCEER, b: Rabia SAĞAN)

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyalin Toplanması

Çalışmada kullanılan *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerine ait bitki materyali, 2022-2023 yıllarında, türlerin vejetasyon dönemlerinde Mayıs-temmuz aylarında, Gümüşhane'den toplandı. Toplanan bitki örneklerinde teşhis yapılabilmesi için kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve gibi karakterlere sahip olmasına dikkat edildi. Arazide toplanan bitkiler, preslenerek KTUB'de herbaryum örneği haline getirildi. Popülasyonlardan genom büyüklüğü varyasyonunu tespit etmek için, bir transekt boyunca ve 5 metre arayla, bireylerden genç yaprak örnekleri toplandı. Üreme çalışmaları için ise çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme dönemlerinde bulunan bireylerden kapitulum örnekleri toplandı.

Tablo 1. İncelenen türlerin lokalite bilgileri

Tür İsmi	Toplandığı Yer	Koleksiyon No.
<i>T. heterolepis</i>	A7 Gümüşhane: Keçikaya Köyü, yol kenarı, 10.06.2022, 1500-1600 m,	İnceer 1229
	A7 Gümüşhane: Keçikaya Köyü, yol kenarı, 12.06.2023, 1500-1600 m,	İnceer 1237
	A7 Gümüşhane: Zigana Dağı, yol kenarı, 10.06.2022, 1200-1300 m,	İnceer 1228
<i>T. ziganaense</i>	A7 Gümüşhane: Zigana Dağı, yol kenarı, 03.06.2023, 1200-1300 m,	İnceer 1234

2.2. Polen Canlılık Testi

Polen canlılığı asetokarmin, safranin ve TTC boyama yöntemleri ile test edildi. Olgun tüpsü çiçekler, diseksiyon iğnesi yardımıyla açılarak anterde bulunan polenler açığa çıkarıldı. Lam üzerine yayılmış polenler, %1'lik hazırlanmış boya solüsyonları ile oda sıcaklığında 12 saat inkübasyona bırakıldı. Üç tekrar halinde hazırlanan polen preparatları Olympus CX21 ışık mikroskobu ile incelendi ve koyu renkli boyananlar canlı, diğerleri cansız olarak kabul edildi. Her bir preparattan rastgele sayılan 100 adet polen tanesi üzerinden canlı ve cansız polen tablosu yapılarak, Kumar vd. (1995)'ne göre yüzdelik oran belirlendi (Kalyoncu vd., 2013; Li vd., 2023).

2.3. Stigma Olgunluk Testi

Stigma olgunluğu hidrojen peroksit ile test edildi. Çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme döneminde toplanmış olan çiçeklerin pistillerinden stigma kısımları izole edilerek üç tekerrür olacak şekilde petri kaplarına alındı ve üzerine %37'lik hidrojen peroksit damlatıldı. Solüsyon ile 24-25 °C'de 2 saat muamele edilen stigmalarda inceleme yapıldı. Gözlem sonucunda, stigma üzerinde oluşan kabarcıklar olgunluk veya polen alımına hazır olarak kabul edilirken, kabarcık oluşmaması stigmanın henüz tozlaşma ve döllenme için uygun olmaması şeklinde kabul edildi (Dafni & Maués, 1998).

2.4. Tohum Canlılık Testi

Tohum canlılığını belirlemek için %1'lik TTC testi yapıldı. Rastgele seçilen 25 adet aken 4°C'de bir gece suda bekletildi. Perikarbi çıkarılan embriyolar, petri kabına alınarak oda sıcaklığında, 24 saat %1'lik TTC ile muamele edildi. Boyanan tohumlar stereo mikroskopta incelenerek alınan sonuçlara göre canlılık oranı hesaplandı. Kırmızı boyanan tohumlar canlı olarak kabul edilirken, boyanmayanlar cansız olarak kabul edildi. Elde edilen veriler yüzdelik oranın belirlenebilmesi için tablo haline getirildi (AOSA, 2012).

2.5. Aken Çimlendirme ve Yaşama Başarısı

Çimlenme çalışmalarında her iki tür için, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ışık rejimi uygulandı. Çimlenme çalışmalarından önce deney süresince kullanılan tüm malzemeler

(petri kapları, saf su, pens, filtre kağıdı vb.) 121 °C’de 15 dakikalık programda otoklavlanarak sterilize edildi. Çimlendirme işleminin tüm aşamaları steril kabin içerisinde gerçekleştirilerek her bir tür ve uygulama grubu için 24 akenden oluşan 3’er petri hazırlandı.

Seçilen olgun akenlerde, çimlenme süresi boyunca kontaminasyonun oluşmaması için sterilizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bunun için musluk suyunda yıkanan akenler ilk olarak, etil alkolden geçirildi. Hemen ardından saf su içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırılarak, alkolün uzaklaşması sağlandı. Saf sudan alınan akenler sodyum hipokloritte muhafaza edildi. Son olarak steril su ile yıkanmış akenler petri kaplarına ekilerek 4 hafta boyunca iki günde bir kontrolü yapıldı. Radikulası çıkan tohumlar çimlenmiş olarak kabul edildi ve elde edilen sonuçlar ile çimlenme oranı hesaplandı (Ergin, 2023).

Ekimden bir ay sonra elde edilen çimlenmiş akenler kültüre edildi. Bitkilerin 16/8 fotoperiyotta, 24 °C sıcaklıkta ve ortalama %45 nem koşullarında gelişimi devam ettirildi. Dört hafta boyunca takip edilen bitkilerin hayatta kalma oranı hesaplandı (Kocot vd., 2022).

2.6. Nuklear DNA Miktarı

Her tür için belirli mesafelerde (en az 5 metre) bulunan bitkilerden genç yaprak örnekleri toplandı. *Tripleurospermum heterolepis* için 7 birey, *T. ziganaense* için 10 birey seçildi. Tür içi genom büyüklüğü varyasyonunu belirlemek için seçilen bireyden Galbraith yöntemine göre nukleus izolasyonu yapıldı ve propodium iodide (PI) ile boyanan çekirdekler, BD Accuri C6 akım sitometri cihazında analiz edildi (Galbraith, 1983). Standart bitki olarak *Pisum sativum* L. ve *Zea mays* L. kullanıldı. İki farklı günde aynı işlemlerin tekrarı yapıldı. Elde edilen veriler nuklear DNA miktarı sonuçları için, G_1 pikinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak, aşağıdaki formül aracılığıyla pikogram (pg) olarak hesaplandı (Doležel & Bartoš, 2005):

$$\text{Numunenin } 2C \text{ değeri} = \frac{\text{Numunenin } G_1 \text{ pik değeri}}{\text{Referansın } G_1 \text{ pik değeri}} \times \text{Referansın DNA içeriği}$$

2.7. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme

Her tür için doğal popülasyondan alınan akenlerden olgun olanlar seçildi. Deney düzeneği 3 petri içerisinde 50’şer adet aken olacak şekilde hazırlandı. Galbraith (1983)

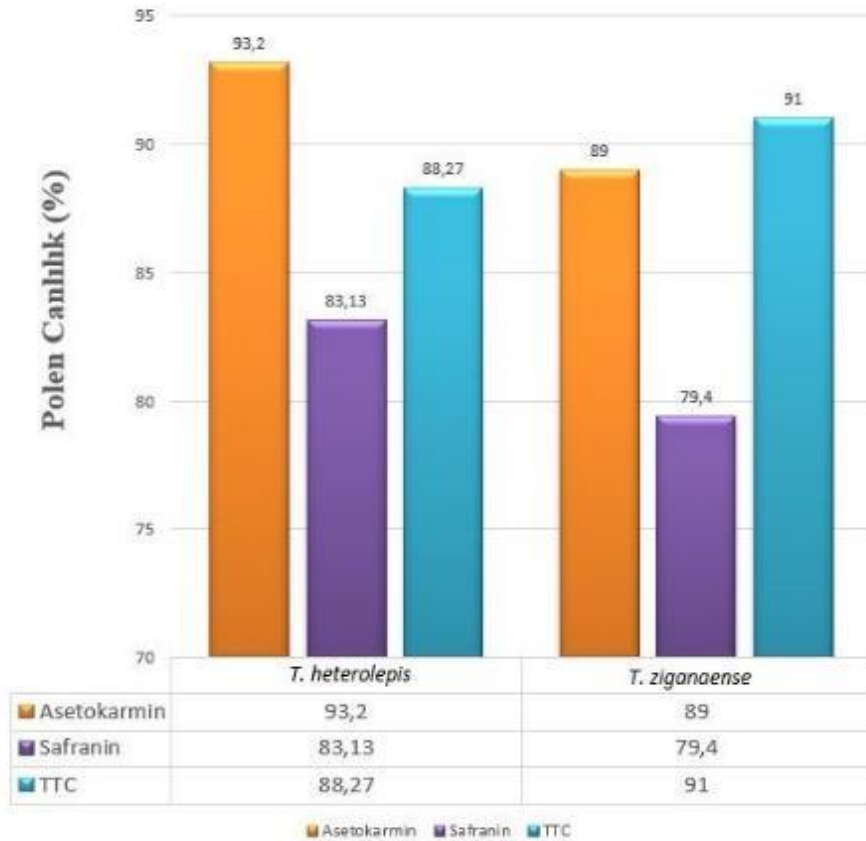
metoduna göre nukleus izolasyonu yapıldı. Yönteme göre akenler 1 ml WPB (0,2 M Tris HCl, 4 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 2 mM EDTA $Na_2 \cdot 2H_2O$, 86 mM NaCl, 10 mM potasyum metabisülfid, 1 % PVP-30, 1 % (v/v) Triton X-100, pH 7,5; Loureiro vd., 2007) tamponunda keskin bir jilet yardımıyla mekaniksel olarak çok küçük parçalara ayrıldı ve 30 μm filtre ile süzülerek eppendorflara aktarıldı. Elde edilen süspansiyon üzerine öncelikli olarak 10 $\mu g/ml$ Rnase ve daha sonra 5 $\mu g/ml$ propodium iodide ilave edildi ve karanlık ortamda ölçüm işlemi yapılarak, enzimatik reaksiyonların doğru bir şekilde gerçekleşmesi sağlandı. BD Accuri C6 akım sitometri cihazında yapılan ölçümlerde, endosperm ve embriyo pikleri gözlemlendi ve endosperm: embriyo oranına göre üreme biçimi belirlendi. Türlerde bu oranın 1-1,5 aralığında olması eşeyli üremeyi gösterirken, 2 ve üzeri olması apomiksis olduğunu göstermektedir (Kolarčik vd., 2018).

3. BULGULAR

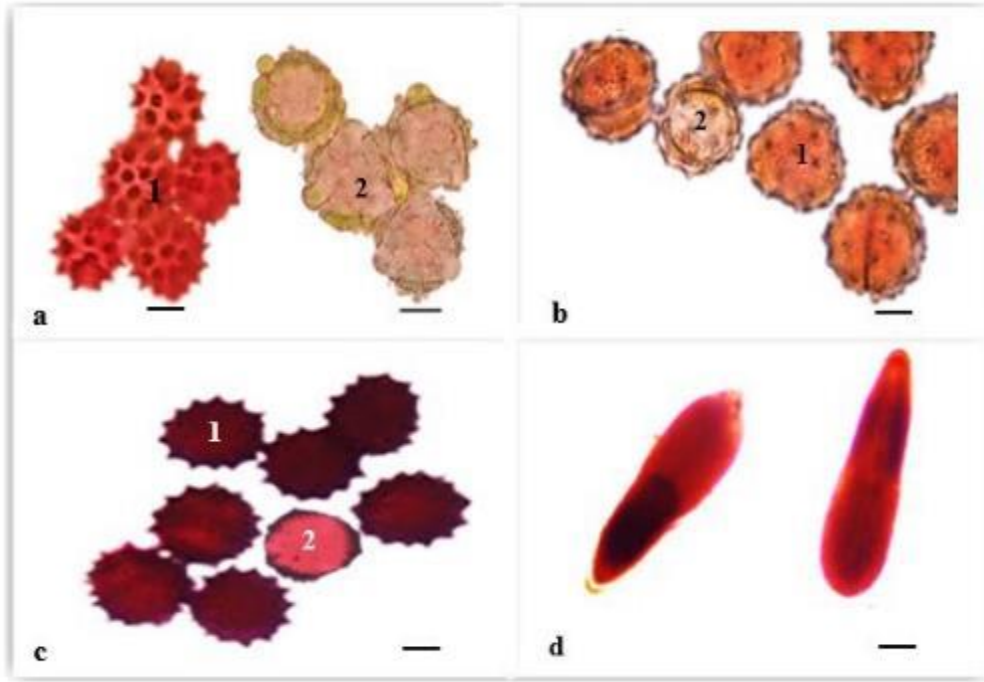
3.1. Polen ve Tohum Canlılık Testi

Polen canlılığını belirlemek için asetokarmin, safranin ve TTC olmak üzere 3 farklı polen canlılık testleri yapıldı. Çalışma sonucunda, *T. heterolepis* türü için canlı polen oranı asetokarminde $93\pm4,45$, safraninde $83\pm6,9$, TTC’de 88 ± 8 iken, *T. ziganaense* türü için ise canlı polen oranı asetokarminde $89\pm5,21$, safraninde $79\pm8,1$ ve TTC’de $91\pm5,51$ ’dir.

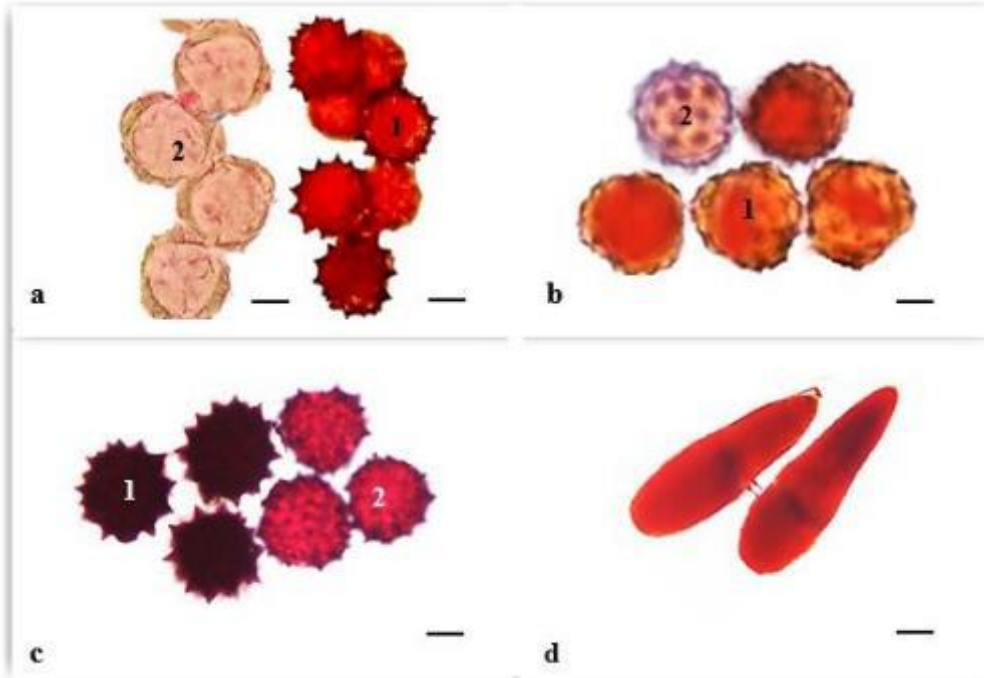
TTC testi sonucunda, tohum canlılığı *T. heterolepis*’de $96\pm8,43$, *T. ziganaense*’de $92\pm9,19$ olarak tespit edildi. Elde edilen bu sonuçlar, her iki türde de polen canlılığının yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 2. *T. heterolepis* ve *T. ziganaense*’nin polen canlılığı



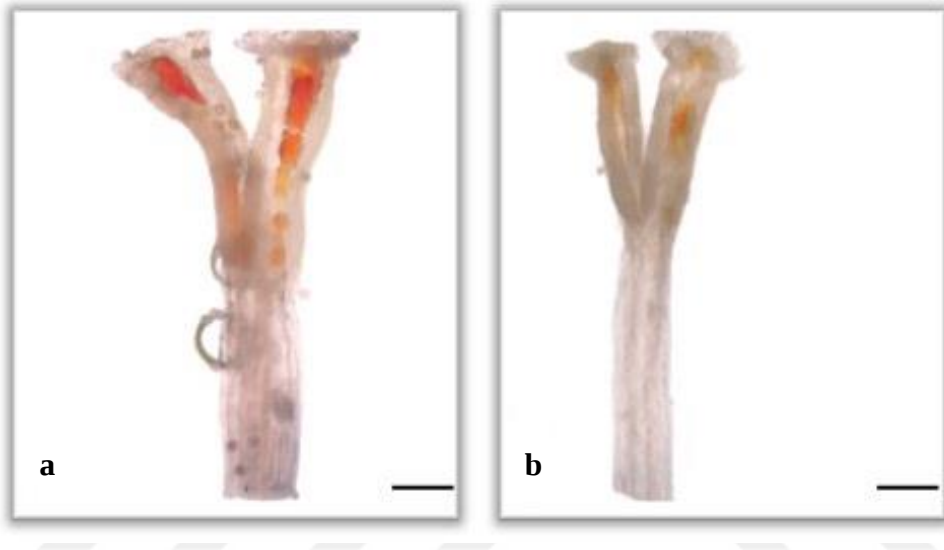
Şekil 3. *Tripleurospermum heterolepis*'in polen (a-c) ve tohum canlılığı (d). a) Asetokarmin, b) TTC, c) Safranin, d) TTC. (1: canlı polen taneleri, 2: cansız polen taneleri. Ölçekler; a ve c: 50 μ m, b: 20 μ m, d: 0.2 mm)



Şekil 4. *Tripleurospermum ziganaense*'nin polen (a-c) ve tohum canlılığı (d). a) Asetokarmin, b) TTC, c) Safranin, d) TTC. (1: canlı polen taneleri, 2: cansız polen taneleri. Ölçekler; a ve c: 50 μ m, b: 20 μ m, d: 0.5 mm)

3.2. Stigma Olgunluk Testi

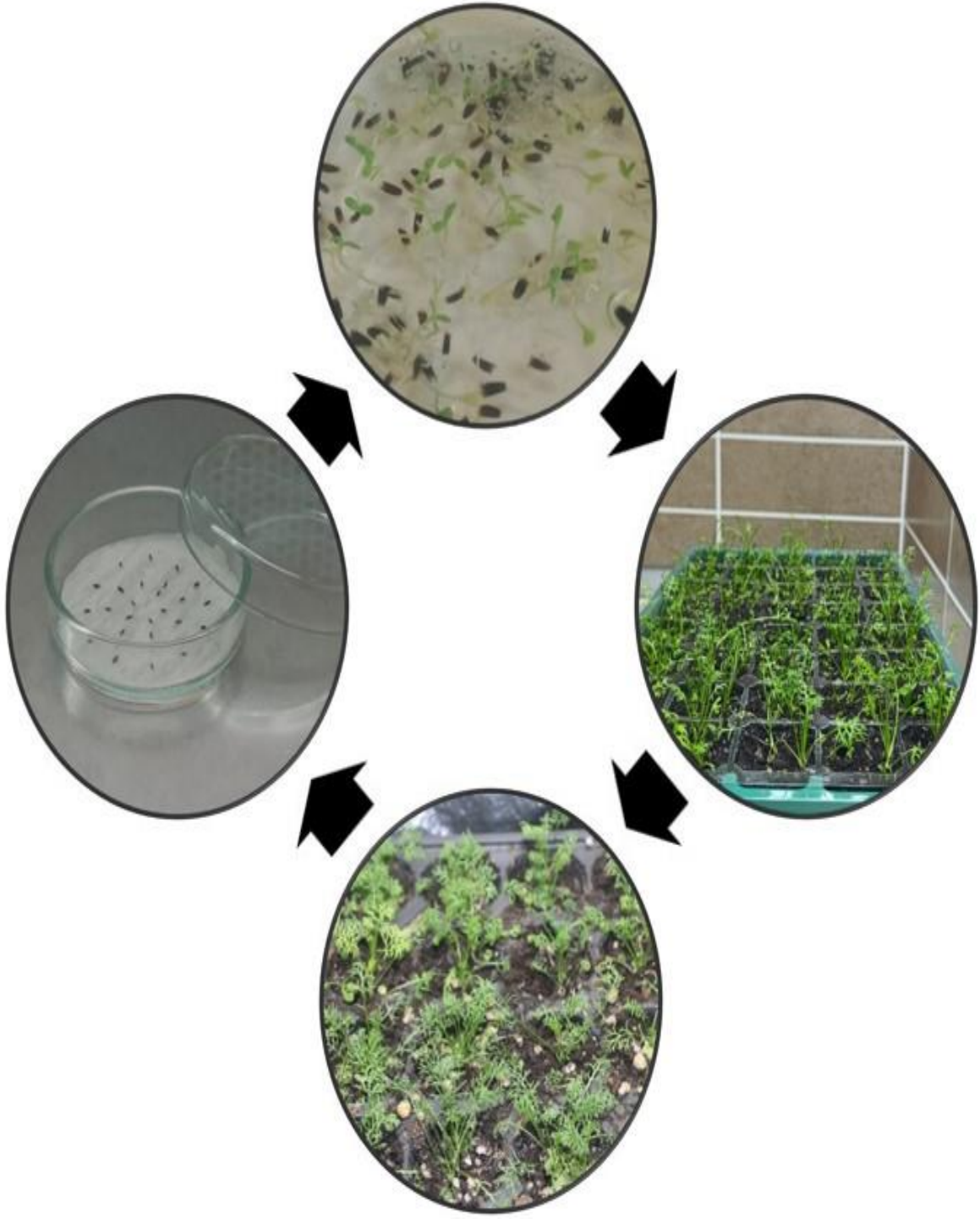
Çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme evresinde olan stigmalar ile H₂O₂ olgunluk testi yapıldı. Çalışma sonucuna göre, çiçeklenme öncesinde herhangi bir reaksiyon gerçekleşmedi. Çiçeklenme evresinde ise *T. heterolepis*' de ortalama olgunluk değeri, Dafni & Maués (1998) methoduna göre $1,33 \pm 0,7$ iken, *T. ziganaense*' de $1,66 \pm 0,47$ ' dir.



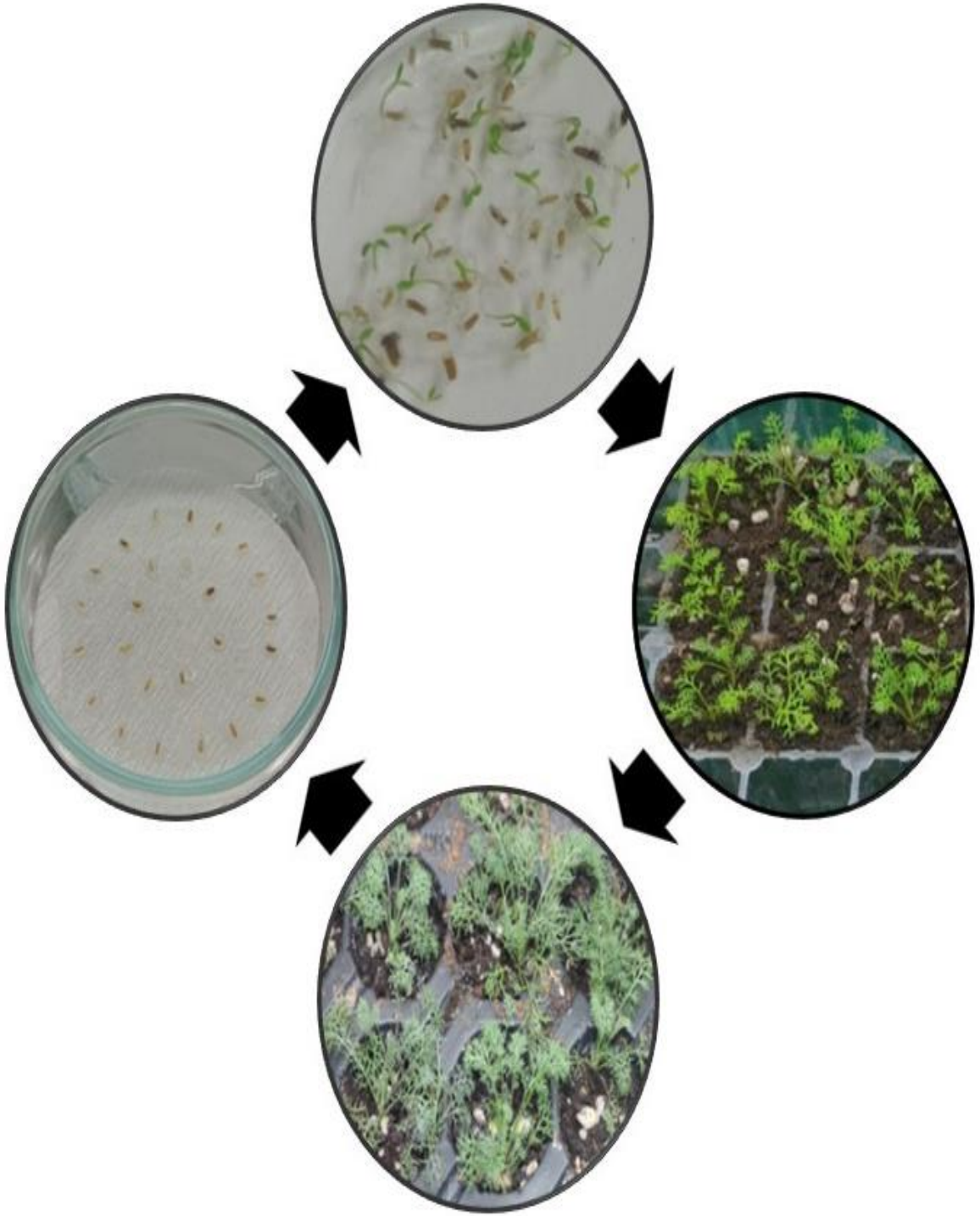
Şekil 5. H₂O₂ stigma olgunluk testi. a) *T. heterolepis*, b) *T. ziganaense*. (Ölçekler; a ve b: 0.5 mm)

3.3. Aken Çimlendirme ve Yaşama Başarısı

Aken çimlendirme çalışmaları sonucunda, çimlenme oranı *T. heterolepis*'de $95,27 \pm 3,42$ iken, *T. ziganaense*'de ise $91,94 \pm 4,85$ 'tir. *Tripleurospermum heterolepis*'de çimlenmenin başlangıcı 3. gün, en yoğun olduğu zaman dilimi ise 6. gün iken, *T. ziganaense*'de çimlenmenin başlangıcı 6. gün, en yoğun olduğu zaman dilimi ise 20. gün'dür. Her iki tür için yapılan çimlenme çalışması sonucunda, radikulası çıkan akenler uygun ortam koşullarında kültüre edildi. Tohumdan elde edilen bitkiler, optimum *ex situ* koşullarda yetiştirildi ve yaşama başarısı %100 olarak belirlendi.



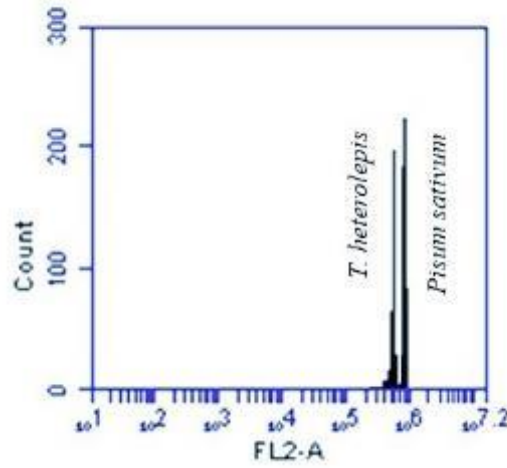
Şekil 6. *Tripleurospermum heterolepis*'de aken çimlendirme ve kültüre etme



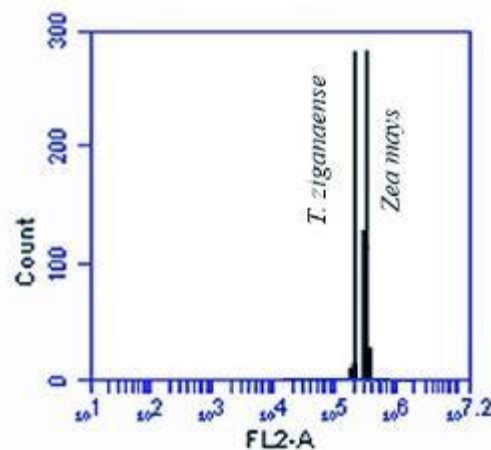
Şekil 7. *Tripleurospermum ziganaense*'de aken çimlendirme ve kültüre etme

3.4. Nuklear DNA Miktarı

Yapılan akım sitometrik analizler sonucunda, *T. heterolepis* türü için 2C değeri 8,61 pg $\pm$ 0,36, C değeri 4,31 pg $\pm$ 0,01 olarak hesaplanmıştır. Tür için en küçük 2C değeri 8,11 pg iken, en büyük 2C değeri ise 9,08 pg'dir. *T. heterolepis* popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonu ise %12'dir. Ortalama CV-değeri 3,98'dir. *T. ziganaense* türü için 2C değeri 4,77 pg $\pm$ 0,21, C değeri 2,39 pg $\pm$ 0,05 olarak belirlenmiştir. Tür için en küçük 2C değeri 4,35 pg iken, en büyük 2C değeri ise 5,12 pg'dir. *T. ziganaense* popülasyon içi nuklear DNA miktarındaki varyasyon ise %18'dir. Ortalama CV-değeri ise 2,26'dır.



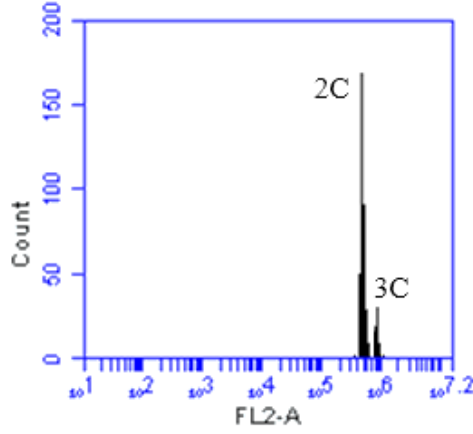
Şekil 8. *Tripleurospermum heterolepis* 'in akım sitometrik histogramı



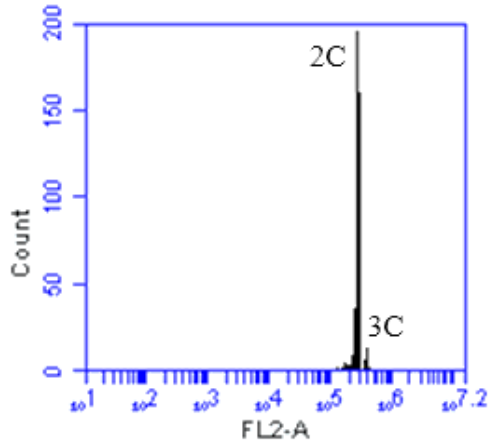
Şekil 9. *Tripleurospermum ziganaense* 'nin akım sitometrik histogramı

3.5. Akım Sitometrik Tohum Görüntüleme

Üreme stratejisini belirlemek için yapılan akım sitometrik analizler sonucunda, endosperm:embriyo oranı *T. heterolepis*'de $1,33 \pm 0,13$ iken, *T. ziganaense*'de $1,29 \pm 0,13$ dur.



Şekil 10. *Tripleurospermum heterolepis*'in akım sitometrik tohum görüntüleme histogramı



Şekil 11. *Tripleurospermum ziganaense*'nin akım sitometrik tohum görüntüleme histogramı

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, endemik *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin bazı üreme özellikleri ve popülasyon içi genom büyüklüğündeki varyasyonlar araştırılmıştır. Üreme biyolojisi kapsamında, polen canlılığı, tohum canlılığı, stigma olgunluğu, akım sitometrik yöntemle tohum görüntüleme testleri ile birlikte aken çimlendirme ve çimlenen akenlerden elde edilen bitkilerin yaşama başarısını belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bunlara ilave olarak, akım sitometrik yöntemle türlerin nuklear DNA miktarı hesaplanmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucu elde edilen tüm veriler Tablo 2' de özetlenmiştir.

Tripleurospermum cinsi üzerinde polinolojik çalışmalar yapılmakla birlikte (Çeter vd., 2013), polen canlılığını belirlemeye yönelik çalışmalar ilk kez bu tez kapsamında yapılmıştır. Bu çalışmada, hem *T. heterolepis*'de hem de *T. ziganaense*'de %70'in üzerinde polen canlılığı tespit edilmiştir (Tablo 2 ve Şekil 2, Şekil 3). Elde edilen bu sonuçlar, Kumar vd.' ne göre, her iki türünde polen canlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Asteraceae familyasının diğer üyelerinde yapılan çalışmalarda ortalama %10-%98 arasında bir polen canlılık oranı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar arasında *Smallanthus sonchifolius*'da canlılık oranı %15 belirlenirken, polen canlılığı *A. artemisiifolia* L.'da %56,8 , *S. canadensis* L.'de %67 , *B. pilosa* L. %98,83 , *E. breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz %95 , *C. lanceolata* L. ise %94'e ulaşmıştır (Grombone-Guaratini vd., 2004; Li & Dang, 2007; Zeng vd., 2010; Hao vd., 2015; Ibañez vd., 2017).

Polen canlılığının belirlenmesinde kullanılan boyama yöntemleri, genellikle polenlerin hücresel bileşenlerinin boyanmasına ya da belirli enzimlerin aktivitesine dayanmaktadır. Kullanılan boyalar arasında asetokarmin, kromatin ve ribonükleik asitleri boyamak için kullanılırken, TTC ise redüktaz enzim aktivitesine dayanmaktadır (Abdul-Baki, 1992; Li vd., 2023). Dolayısıyla, polen canlılık testlerinde kullanılan boyaların kimyasal yapısına bağlı olarak, elde edilen sonuçlar arasında da farklılıklar gözlemlenmektedir. Buna ilave olarak, genetik faktörlerinde polen canlılığında farklı gözlemlere neden olabileceği rapor edilmiştir (Dafni & Firmage, 2000). Yapılan bu çalışmada, en yüksek polen canlılığı *T. heterolepis*'de asetokarmin ile, *T. ziganaense*'de ise TTC ile elde edilmiştir (Tablo 2 ve Şekil 2a-c, Şekil 3a-c). Bununla birlikte, her iki türde de en düşük polen canlılığı safraninde gözlenmiştir. İncelenen türler arasında polen canlılığındaki farklılıkların, kullanılan boyalar ve türlerin genetik özelliklerine bağlı

olabileceği düşünülmektedir. Benzer sonuçlar daha önce yapılan çalışmalar ile de ortaya konulmuştur (Parfitt & Ganeshan, 1989; Sedgley & Harbard, 1993; Kalyoncu vd., 2013).

Dafni ve Maués (1998), polen canlılığı ile birlikte stigma olgunluğunun da türlerin üreme başarısında önemli bir rol oynadığını rapor etmişlerdir. Stigma olgunluğunun yüksek olması, türün polen etkileşimine ve dolayısıyla döllenip yeni bir birey oluşturmaya hazır olduğu anlamına gelmektedir. Polen-stigma etkileşimi ise stigma yüzeyinde bulunan peroksidaz enzimi sayesinde gerçekleşmektedir. Bu enzim sayesinde stigma yüzeyine gelen türe özgü polen, papillalar tarafından tanınır ve hidrasyon aşamasına geçer. Bu işlemler esnasında peroksidazlar yüksek düzeyde hidrojen peroksit tüketir. Dolayısıyla, H_2O_2 , stigma olgunluğunu belirlemede en çok kullanılan indikatördür (McInnis vd., 2006; Sharma vd., 2023). *Tripleurospermum heterolepis* ve *T. ziganaense* türleri üzerinde, çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme döneminde yapılan stigma olgunluk testleri sonucunda, her iki türde de H_2O_2 reaksiyonunun çiçeklenme öncesi dönemde negatif, çiçek döneminde ise iyi derecede pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4). Benzer sonuçlar, *Centaurea amaena*, *Nouelia insignis*, *Opisthopappus* Ling, *Smallanthus sonchifolius* gibi Asteraceae'nin diğer üyelerinde de rapor edilmiştir (Ibañez vd., 2017; Atasun & Aksoy, 2018; Liu vd., 2021; Wang vd., 2023).

Tohum canlılık testlerinde, tohumlara TTC uygulanması ile kırmızı renk oluşumun gözlenmesi, solunum sırasında dehidrojenaz enziminin katalizörlüğünde kırmızı renkli formazin adı verilen bir bileşiğin oluşmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Paiva vd., 2017; Quintana vd., 2019; Hall vd., 2021). Dolayısıyla, kırmızı renk oluşumun gözlemlendiği tohumlar, biyokimyasal olarak canlı kabul edilmektedir. Yapılan bu çalışmada, uygulanan TTC testi sonucu her iki türdeki tohum canlılığının %80'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2 ve Şekil 2d, Şekil 3d). Elde edilen bu sonuçlar, *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinde tohum canlılığının yüksek derecede olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, oluşan tohumların canlılık oranı, türün devamlılığını sağlamada yeterli seviyede olduğu düşünülmektedir. Benzer sonuçlar, *Helianthus schweinitzii*, *Arnica montana* L., *Centaurea amaena* gibi Asteraceae'nin diğer üyelerinde de rapor edilmiştir (Grubbs & Wynes, 2015; Yankova-Tsvetkova vd., 2016; Atasun & Aksoy, 2018).

Tohum canlılığının önemli bir fizyolojik göstergesi olan tohum çimlendirme işlemi, aynı zamanda türlerin üreme başarısının ortaya konulması açısından da oldukça önemlidir (Bu vd., 2008; Kırmızı vd., 2011). Leyva-Peralta vd. (2019) Astereceae üyelerinde akenlerin heterojen olgunlaşması nedeniyle genellikle düşük bir çimlenme oranına sahip olduklarını belirtmişlerdir. Diğer yandan, *Senecio coincy* Rouy, *Senecio integrifolius* (L.) Clairv.,

Hieracium myriadenum Boiss. ve Reut. ex Rchb., *Tripleurospermum inodorum* gibi Asteraceae'nin bazı türlerinin akenlerinde *in vivo* ortamlarda %70'in üzerinde bir çimlenme gözlenmiştir (Widén, 1987; Kay, 1994; Giménez-Benavides vd., 2005; Martínez-García vd., 2012). *Tripleurospermum* türleri üzerinde yapılan aken çimlendirme çalışmalarında ise *in vitro* ortamlarda genellikle %70'in üzerinde bir çimlenme oranı (Cüce vd., 2022; İnceer vd., 2022, Ergin, 2023), *in vivo* ortamlarda ise %55 çimlenme oranı rapor edilmiştir (Kırmızı vd., 2011). Diğer yandan, akenlerden *in vitro* ortamlarda çoğaltılan bitkilerde *ex vitro* ortamlarda %70'in üzerinde bir yaşama başarısı elde edilmiştir (Cüce vd., 2022; İnceer vd., 2022, Ergin, 2023). Bu tez çalışmasında, gerek *T. heterolepis* gerekse *T. ziganaense*'nin akenlerinde *in vivo* ortamda çimlenme oranının %90'nın üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *in vivo* ortamda akenlerin çimlenmesinden elde edilen genç bitkilerin kültüre eldilmesi sonucunda ise botanik bahçesinde %100 yaşama başarısı elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, her iki türünde üreme başarısının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir (Tablo 2 ve Şekil 5, Şekil 6).

Akım sitometrik tohum görüntüleme yöntemi ile birçok Asteraceae üyesinin eşeyli veya eşeysiz (agomospermi, apomiksis) üreyip üremedikleri ortaya konulmuştur (Vašut & Majeský, 2015; Mráz & Zdvorák, 2019; Zhang vd., 2021). Yapılan bu tez çalışmasında, endosperm:embriyo (3C:2C) oranı *T. heterolepis*'te 1,33, *T. ziganaense*'de 1,29 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2 ve Şekil 9, Şekil 10). Akenlerin akım sitometrik analizleri sonucu elde edilen bu veriler, *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin çift döllenme ile eşeyli ürediklerini göstermektedir.

Akım sitometrik analizlerde, kullanılan materyal çeşidine bağlı olarak, örneğin; akenlerin *in vivo* ortamlarda çimlenlendirilmesinden elde edilen genç yapraklar ile doğal popülasyonlardan direkt olarak elde edilen genç yapraklar arasında elde edilen 2C değerinde farklılıklar gözlenmektedir. Ayrıca, standart bitki seçimi ve nukleus izolasyon yöntemlerindeki farklılıklar da analiz edilen türün 2C değerinde küçük bir değişime neden olabilmektedir (Suda, 2004; Sliwinska, 2005). İnceer vd. (2018), akenlerin çimlendirilmesinden elde edilen genç yaprakların akım sitometrik analizleri sonucu, 2C değerinin *T. heterolepis*'de $8,21 \pm 0,18$ pg, *T. ziganaense*'de ise $4,82 \pm 0,09$ pg olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, incelenen *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin doğal popülasyondaki bireylerinden elde edilen genç yaprakların akım sitometrik analizleri sonucu, 2C değerleri sırasıyla $8,61 \pm 0,36$ pg ve $4,77 \pm 0,21$ pg olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yapılan akım sitometrik analiz sonuçları, popülasyon içerisinde ploidi seviyesinin

(x) değişmediğini, 2C değerinde ise tetraploid ($4x$) *T. heterolepis*'de %12, diploid ($2x$) *T. ziganaense*'de %18 bir varyasyonun olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bu veriler, *T. ziganaense*'nin genom büyüklüğündeki çeşitliliğin *T. heterolepis*'den daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Tablo 2. Yapılan çalışmalara ait verilerin özeti

		<i>Tripleurospermum heterolepis</i>	<i>Tripleurospermum ziganaense</i>
Polen Canlılık Asetokarmin-Safranin-TTC (%)	:	93 - 83 - 88	89 - 79 - 91
Stigma Olgunluk	:	1,33	1,66
Tohum Canlılık (%)	:	86	91
Aken Çimlendirme (%)	:	95	91
Yaşama Başarısı (%)	:	100	100
Nuklear DNA Miktarı – Genom Büyüklüğü Varyasyonu (%)	:	8,61 pg - 12	4,77 pg – 18
Endosperm:Embriyo Oranı (3C:2C)	:	1,33	1,29
Üreme Biçimi		Eşeyli / Çift Döllenme	Eşeyli / Çift Döllenme

5. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada, endemik *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin üreme biyolojisi ve popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonu ilk kez ortaya konulmuştur.
2. Üreme biyolojisi çalışmaları kapsamında, türlerin polen canlılık, stigma olgunluk, tohum canlılık ve yaşama başarısı ilk kez bu tez çalışmasıyla tespit edilmiştir.
3. Yapılan polen canlılık testleri sonucunda, gerek *T. heterolepis* gerekse *T. ziganaense*'de polen canlılığının yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir.
4. Hidrojen peroksit ile yapılan stigma olgunluk testlerinde, her iki türde de çiçeklenme öncesi dönemde negatif, çiçeklenme döneminde ise iyi derecede pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Elde edilen bu veriler, her iki türün çiçeklenme döneminde stigma-polen etkileşimlerine hazır olduğunu göstermektedir.
5. TTC ile yapılan tohum canlılık testinde, her iki türün tohumlarında yüksek düzeyde canlılık gözlenmiştir. Bununla birlikte, yapılan çimlendirme çalışmaları sonucunda, her iki türde de yüksek çimlenme oranı tespit edilmiştir.
6. Çimlendirme çalışmasından elde edilen bitkilerin kültüre edilmesi ile birlikte, bitki büyütme odasında %100 yaşama başarısı elde edilmiştir.
7. Yapılan akım sitometrik tohum görüntüleme (FCSS) analizleri sonucunda, hem *T. heterolepis* hem de *T. ziganaense* türlerinin çift döllenme ile eşeyli üredikleri ortaya konulmuştur.
8. Akım sitometrik analiz sonuçları, her iki türde de düşük seviyede popülasyon içi genom büyüklüğü varyasyonlarının olduğunu ortaya koymuştur.
9. Üreme biyolojisi ve sitogenetik çalışmalardan elde edilen veriler ile nesli tehlike altında olan endemik *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin koruma biyolojisine katkılar sağlanmıştır. Aynı zamanda elde edilen veriler, nesli tehlike altında olan diğer *Tripleurospermum* türlerinin koruma biyolojisi içinde bir temel oluşturmuştur.

6. ÖNERİLER

Yapılan çalışma ile nesli tehlike altında olan endemik *T. heterolepis* ve *T. ziganaense* türlerinin bazı üreme özellikleri ve popülasyon içi genom büyüklüğündeki varyasyonlar ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışmalara ilave olarak, embriyolojik, fenolojik ve çiçek biyolojisine yönelik incelemeler yapılabilir. Türlerin doğal popülasyonlarında yapılacak olan tozlaşma uygulamaları ile birlikte türlerin detaylı üreme mekanizması ve yaşama öyküsü ortaya konulabilir.

Genom büyüklüğündeki varyasyon, türün yok olmasıyla yakından ilişkilidir. Bu nedenle, günümüzde yaygın olarak kullanılan ISSR ve AFLP gibi moleküler belirteçler ile FISH gibi *in situ* hibridizasyon yöntemleri kullanılarak, türlerin popülasyon içi genetik çeşitliliği tespit edilebilir. Türleri korumaya yönelik olarak ise *in situ* ve *ex situ* koruma çalışmaları yapılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abdul-Baki, A. A. (1992). Determination of pollen viability in tomatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(3):473-476.
- Aksu Kalmuk, N. (2018). Anadolu'nun 40-42 paralelleri arasında yayılış gösteren *Crepis* L.(Asteraceae) taksonlarının morfolojik, karyolojik ve moleküler yönden incelenmesi. K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.
- AOSA - Association of Official Seed Analysts - (2012). Tetrazolium testing handbook. Washington (DC): AOSA Inc.
- Araújo, J. D. O., Pinheiro, D. T., Dias, D. C. F. D. S., Hilst, P. C., & Medeiros, A. D. D. (2019). Adequacy of the tetrazolium test to evaluate the viability of *Jatropha curcas* L. seeds. Journal of Seed Science, 41, 470-477.
- Atasagun, B., (2012). *Centaurea amaena* Boiss. & Balansa'nın Autekolojisi Ve Koruma Biyolojisi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Atasagun, B., & Aksoy, A. (2018). Autecology and conservation biology of *Centaurea amaena* (Asteraceae). JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences, 28 (1).
- Atlagić, J., Terzić, S., & Marjanović-Jeromela, A. (2012). Staining and fluorescent microscopy methods for pollen viability determination in sunflower and other plant species. Industrial crops and products, 35(1), 88-91.
- Batista, M. F., & De Souza, L. A. (2017). Flower structure in ten Asteraceae species: considerations about the importance of morpho-anatomical features at species and tribal level. Brazilian Journal of Botany, 40, 265-279.
- Black, H. N., Harrison, J. D. G., & Cron, G. V. (2019). Do breeding system and pollen limitation vary with altitude in the widespread herb, *Cineraria erodioides* (Asteraceae)?. South African Journal of Botany, 121, 377-385.
- Bourge, M., Brown, S. C., & Siljak-Yakovlev, S. (2018). Flow cytometry as tool in plant sciences, with emphasis on genome size and ploidy level assessment. Genetics & Applications, 2(2), 1-12.
- Bu H., Du G., Chen X., Xu X., Liu K. & Wen S. (2008) Community wide germination strategies in alpine meadow on the eastern Qinghai-Tibet plateau: phylogenetic and life history correlates. Plant Ecology 195: 87–9.
- Byers, D. L. (1998). Effect of cross proximity on progeny fitness in a rare and a common species of *Eupatorium* (Asteraceae). American Journal of Botany, 85(5), 644-653.
- Cao, B., Zhang, L. L., & Bai, C. K. (2014). Estimation of nuclear DNA content in tannin-rich medicinal plant *Cornus officinalis* by flow cytometry. Chinese Herbal Medicines, 6(2), 152-158.

- Chen, F., Yuan, W., Shi, X., & Ye, Y. (2013). Evaluation of pollen viability, stigma receptivity and fertilization success in *Lagerstroemia indica* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(46), 6460-6467.
- Cüce, M., İnceer, H., Imamoglu, K., V., Ergin, T. ve Ucler, A., O., 2022. Towards *ex situ* conservation of globally rare Turkish endemic *Tripleurospermum fissurale* (Asteraceae), *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 58, 6, 1002-1011.
- Çeter, T., Pinar, N. M., İnceer, H., Hayirlioğlu-Ayaz, S., & Yaprak, A. E. (2013). The comparative pollen morphology of genera *Matricaria* L. and *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae) in Turkey. *Plant systematics and evolution*, 299, 959-977.
- Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press.
- Dafni, A., & Maués, M. M. (1998). A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual plant reproduction*, 11, 177-180.
- Dafni, A., & Firmage, D. (2000). Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Pollen and pollination*, 113-132.
- Delbón, N., Cosa, M. T., & Bernardello, G. (2017). Reproductive biology, seed germination and regeneration of *Flourensia* DC. species endemic to Central Argentina (Asteraceae). *Adansonia*, 39(1), 71-85.
- Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H., & Greilhuber, J. (2003). Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry Part A* 51A:127–128.
- Doležel, J. ve Bartoš, J., (2005). Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size, *Annals of Botany*, 95, 99-110.
- Doll, N. M., & Ingram, G. C. (2022). Embryo–endosperm interactions. *Annual Review of Plant Biology*, 73, 293-321.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N. (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (The Red Data Book of Turkey's Plants), Türkiye Tabiatını Koruma Derneği ve Van Y.Y. Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Ergin, T. (2023). Tehlike Altındaki Endemik *Tripleurospermum conoclinium* ve *T. hygrophilum* (Asteraceae) Türlerinin Mikroçoğaltımı ve Korunması, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.
- Franklin-Tong, V. E. (1999). Signaling and the modulation of pollen tube growth. *The Plant Cell*, 11(4), 727-738.
- Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., Robinson, H. (2009). Classification of Compositae. In: Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., Bayer, R.J. (Eds.). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy. Smithsonian Institution, Washington.

- Galbraith, D. W., Harkins, K. R., Maddox, J. M., Ayres, N. M., Sharma, D. P., & Firoozabady, E. (1983). Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, 220(4601), 1049-1051.
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A., & Pérez-García, F. (2005). Seed germination of high mountain Mediterranean species: altitudinal, interpopulation and interannual variability. *Ecological Research*, 20(4), 433-444.
- Gosling PG. (2003). Seed viability. *Seed conservation: turning science into practice*. Kew, England: Royal Botanic Gardens. p 447–481.
- Grombone-Guaratini, M. T., Solferini, V. N., & Semir, J. (2004). Reproductive biology in species of *Bidens* L. (Asteraceae). *Sciagric (Piracicaba, Brazil)*, 61(2), 185–189.
- Grubbs, K. C., & Wynes, A. (2015). Reproductive biology of the endangered *Schweinitz's sunflower* (*Helianthus schweinitzii*). *Castanea*, 80(1), 20-28.
- Hall, R. M., Urban, B., Skalova, H., Moravcová, L., Sölter, U., Starfinger, U., ... & Karrer, G. (2021). Seed viability of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) is affected by seed origin and age, but also by testing method and laboratory. *NeoBiota*, 70, 193-221.
- Hao, J. H., Jin, J. J., Chen, G. Q., & Wang, L. X. (2015). Breeding system of a noxious invasive alien plant, *Ambrosia artemisiifolia* L. *Acta Ecologica Sinica*, 35, 2516-2520.
- Heslop-Harrison J. S. (1992). Pollen capture, adhesion and hydration. In: Cresti M., Tiezzi A. (eds.) *Sexual plant reproduction*. Springer, Berlin, pp. 81-88.
- Houliston, G. J., & Chapman, H. M. (2004). Reproductive strategy and population variability in the facultative apomict *Hieracium pilosella* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 91(1), 37-44.
- Ibañez, M. S., Mercado, M. I., Coll Araoz, M. V., Zannier, M. L., Grau, A., & Ponessa, G. I. (2017). Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications. *Journal of Plant Research*, 130, 327-337.
- İnceer, H., & Hayirlioglu-Ayaz, S. (2008). *Tripleurospermum ziganaense* (Asteraceae, Anthemideae), a new species from north-east Anatolia, Turkey. *Botanical journal of the Linnean Society*, 158(4), 696-700.
- İnceer, H., Bal, M., Ceter, T., & Pinar, N. M. (2012). Fruit structure of 12 Turkish endemic *Tripleurospermum* Sch. Bip. (Asteraceae) taxa and its taxonomic implications. *Plant systematics and evolution*, 298, 845-855.
- İnceer, H. (2015). Redescription of *Tripleurospermum heterolepis* (Asteraceae), endemic to Turkey. *Phytotaxa*, 202(3).
- İnceer, H., Garnatje, T., Hayırlioğlu-Ayaz, S., Pascual-Díaz, J. P., Vallès, J., & Garcia, S. (2018). A genome size and phylogenetic survey of Mediterranean *Tripleurospermum* and *Matricaria* (Anthemideae, Asteraceae). *PLoS One*, 13(10), e0203762.

- İnceer, H., Cüce, M., İmamoglu, K., V., Ergin, T. ve Üçler, A., O., (2022). *In vitro* propagation and cytogenetic stability of *Tripleurospermum insularum* (Asteraceae) - a critically endangered insular endemic species from Turkey, Plant Biosystems, 156, 5, 1213-1221.
- Jawhari, F. Z., Imtara, H., El Moussaoui, A., Khalis, H., Es-Safi, I., Al Kamaly, O., ... & Bari, A. (2022). Reproductive Biology of the Two Varieties of *Anacyclus pyrethrum* L. *Anacyclus pyrethrum* var. *pyrethrum* (L.) Link and *Anacyclus pyrethrum* var. *depressus* (Ball.) Maire An Endemic Endangered Species. Plants, 11(17), 2299.
- Kalyoncu, İ. H., Ersoy, N., & Yılmaz, M. (2013). Selekte Edilmiş K-3 Kızılcık (*Cornus mas* L.) Genotipine Ait Polen Canlılık ve Çimlenme Düzeyleri ile Polen Üretim Miktarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. MANAS Journal of Agriculture and Life Sciences, 3(1), 39-45.
- Kay, Q. O. N. (1994). *Tripleurospermum inodorum* (L.) Schultz Bip. Journal of Ecology, 82(3), 681-697.
- Kırmızı, S., Güler, G., & Arslan, H. (2011). Germination responses to GA₃ and short-time chilling of three endemic species: *Tripleurospermum pichleri*, *Cirsium leucopsis* and *Senecio olympicus* (Asteraceae). Plant Species Biology, 26(1), 51-57.
- Kocot, D., Sitek, E., Nowak, B., Kołton, A., & Towpasz, K. (2022). Reproductive Biology of Dry Grassland Specialist *Ranunculus illyricus* L. and Its Implications for Conservation. Biology, 11(6), 873.
- Kolarčík, V., Kocová, V., & Vašková, D. (2018). Flow cytometric seed screen data are consistent with models of chromosome inheritance in asymmetrically compensating allopolyploids. Cytometry Part A, 93(7), 737-748.
- Krahulcová, A., & Suda, J. (2006). A modified method of flow cytometric seed screen simplifies the quantification of progeny classes with different ploidy levels. Biologia Plantarum, 50, 457-460.
- Kron, P., Suda, J., & Husband, B. C. (2007). Applications of flow cytometry to evolutionary and population biology. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., 38, 847-876.
- Kumar, A., Chowdhury, R. K., & Dahiya, O. S. (1995). Pollen viability and stigma receptivity in relation to meteorological parameters in pearl millet. Seed Science and Technology, Cilt 23, No. 1, 147-156.
- Leyva-Peralta, A. L., Salcedo-Morales, G., Medina-Pérez, V., López-Laredo, A. R., Trejo-Espino, J. L., & Trejo-Tapia, G. (2019). Morphogenesis and *in vitro* production of caffeoylquinic and caffeic acids in *Baccharis conferta* Kunth. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 55, 581-589.
- Li, L., & Dang, C. L. (2007). Flora syndrome and breeding system of *Erigeron breviscapus*. Acta Ecologica Sinica, 27, 571-578.

- Li, M., Jiang, F., Huang, L., Wang, H., Song, W., Zhang, X., & Niu, L. (2023). Optimization of *in vitro* germination, viability tests and storage of *Paeonia ostii* pollen. *Plants*, 12(13), 2460.
- Lincoln, R., Boxshall, G., & Clark, P. (1998). A dictionary of ecology, evolution and systematics. İkinci baskı. 361 sayfa. Cambridge University Press.
- Lindgren D., Paule L., Xihuan S., Yuazdani R., Segerstörn O., Wallin J-E., Lezbro M. L. (1995) Can viable pollen carry Scots pine genes over long distances. *Grana* 34: 64-69.
- Liu, F., Gao, C., Chen, M., Tang, G., Sun, Y., & Li, K. (2021). The impacts of flowering phenology on the reproductive success of the narrow endemic *Nouelia insignis* Franch.(Asteraceae). *Ecology and Evolution*, 11(14), 9396-9409.
- Loureiro, J. C. M. (2007). Flow cytometric approaches to study plant genomes (Doctoral dissertation, Universidade de Aveiro (Portugal)).
- Martínez-García, F. E. L. I. P. E., Guerrero-García, S. I. L. V. I. A., & Pérez-García, F. E. L. I. X. (2012). Evaluation of reproductive success and conservation strategies for *Senecio coinnyi* (Asteraceae), a narrow and threatened species. *Australian Journal of Botany*, 60(6), 517-525.
- Matzk F, Meister A, Schubert I (2000). An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. *Plant J*, 21:97-108.
- McInnis, S. M., Emery, D. C., Porter, R., Desikan, R., Hancock, J. T., & Hiscock, S. J. (2006). The role of stigma peroxidases in flowering plants: insights from further characterization of a stigma-specific peroxidase (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *Journal of experimental botany*, 57(8), 1835-1846.
- Mráz, P., & Zdvořák, P. (2019). Reproductive pathways in *Hieracium* sp. (Asteraceae): strict sexuality in diploids and apomixis in polyploids. *Annals of Botany*, 123(2), 391-403.
- Niesenbaum R. A. (1992) Sex ratio, components of reproduction and pollen deposition in *Lindera benzoin* (Lauraceae). *Amer. J. Bot.* 79: 495-500.
- Nyman I. (1992) Pollination mechanisms in six *Campanula* species (Campanulaceae). *Plant Syst. Evol.* 188: 97-108.
- Oberprieler, C., Vogt, R., Watson, L., E. (2007). XVI. Tribe Anthemideae Cass. (1819). In: Kadereit, JW, Jeffrey C, editors. Flowering plants, eudicots; In: Kubitzki K, editor. The families and genera of vascular plants. 8th ed. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 342-374.
- Paiva, E. P. D., Torres, S. B., Almeida, J. P. N. D., Sá, F. V. D. S., & Oliveira, R. R. T. (2017). Tetrazolium test for the viability of gherkin seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 48, 118-124.
- Parfitt, D. E., & Ganeshan, S. (1989). Comparison of procedures for estimating viability of *Prunus pollen*. *HortScience*, 24(2), 354-356.

- Pegoraro, L. (2020) Evolution of Asteraceae in the European Alps Phd Thesis. School of Biological and Chemical Sciences Queen Mary University of London Mile End Road, London E1 4NS, UK.
- Pellicer, J., & Leitch, I. J. (2014). The application of flow cytometry for estimating genome size and ploidy level in plants. *Molecular plant taxonomy: methods and protocols*, 279-307.
- Pellicer, J., Hidalgo, O., Dodsworth, S., & Leitch, I. J. (2018). Genome size diversity and its impact on the evolution of land plants. *Genes*, 9(2), 88.
- Primack, R. B. (1980). Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. *The Journal of Ecology*, 849-862.
- Puite KJ, Tenbroeke WRR (1983) DNA staining of fixed and non-fixed plant protoplasts for flow cytometry with Hoechst 33342. *Plant Science Letters* 32:79-88.
- Quintana, Y. G., Naranjo, R. A., Crespo, Y. A., & Morán, H. R. (2019). Optimisation of tetrazolium concentration and immersion time in the viability test of *Swietenia macrophylla* seeds by using response surface methodology. *Mathematical and Computational Forestry & Natural Resource Sciences*, 11(2), 257.
- Qureshi, S. J., Khan, M. A., Arshad, M., Rashid, A., & Ahmad, M. (2009). Pollen fertility (viability) status in Asteraceae species of Pakistan. *Trakia Journal of Sciences*, 7(1), 12-16.
- Riebkes, J. L., Barak, R. S., & Kramer, A. T. (2015). Evaluating seed viability in prairie forbs: a test of three methods. *Native Plants Journal*, 16(2), 96-106.
- Saroj, C. (2005). Vulnerable and threatened plants of economic value: *Hedychium coronarium* Koering. *MFP News*, 15(1), 19-20.
- Sedgley, M., & Harbard, J. (1993). Pollen storage and breeding system in relation to controlled pollination of four species of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Australian Journal of Botany*, 41(5), 601-609.
- Sharma, B., & Bhatla, S. C. (2014). Elemental and biochemical markers of stigma receptivity in sunflower. *Acta physiologiae plantarum*, 36, 1299-1311.
- Sharma, B., Kalra, G., & Verma, H. (2023). Evaluation of stigma receptivity and its properties in *Helianthus annuus* L.(Asteraceae). *Vegetos*, 36(2), 474-483.
- Shurupova, M. N., Gureyeva, I. I., & Nekratova, N. A. (2015). Reproduction features of rare *Saussurea* species (Asteraceae) in the Kuznetsk Alatau mountains. *Vestn. Tomsk. Gos. Univ., Biol*, 29(1), 86-102.
- Sliwinska E., Zielińska E., Jędrzejczyk I., (2005). Are seeds suitable for flow cytometric estimation of plant genome? *Cytometry A* 64A, 72-79.

- Sliwinska, E., Loureiro, J., Leitch, I. J., Šmarda, P., Bainard, J., Bureš, P., & Galbraith, D. W. (2022). Application-based guidelines for best practices in plant flow cytometry. *Cytometry Part A*, 101(9), 749-781.
- Soares, T. L., de Jesus, O. N., de Souza, E. H., & de Oliveira, E. J. (2018). Floral development stage and its implications for the reproductive success of *Passiflora L.* *Scientia horticultrae*, 238, 333-342.
- Sprunck, S. (2020). Twice the fun, double the trouble: gamete interactions in flowering plants. *Current opinion in plant biology*, 53, 106-116.
- Stanley R. G., Linskens H. F. (1974) *Pollen: biology, biochemistry and management*. Springer, New York.
- Suda, J. (2004). An employment of flow cytometry into plant biosystematics. Unpublished D. Phil. Thesis, Charles University, Praha.
- Swift H. (1950). The constancy of deoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 36: 643–654.
- Tadesse, M. (2014). How to study the Asteraceae (Compositae) with special reference to the Asteraceae of fee. *Ethiopian Journal of Biological Sciences*, 13(Supp.)), 91-101.
- Tandon, R., Koul, M., Shivanna, K. R., (2020). Reproductive ecology of flowering plants: an introduction. *Reproductive Ecology of Flowering Plants: Patterns and Processes*. Springer, Singapore, pp. 1-24.
- Tekşen, M., Erkul, S. K., Duman, H., Ateş, M. A., & Sağıroğlu, M. (2022). *Tripleurospermum eskilensis* (Asteraceae): a new halophytic species from Central Anatolia, Turkey. *Türkiye Botanik Dergisi: Cilt. 46, No.2, Makale 6*.
- Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA—An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological conservation*, 183, 4-18.
- Ustasüleyman, M., Aksu Kalmuk, N., & İnceer, H. (2021). Achene mucilage content of six Turkish endemic *Tripleurospermum* (Asteraceae) taxa and its ecological significance. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 22(1), 73-77.
- Ünal, M. (2006). *Bitki (Angiosperm) Embriyolojisi*. Nobel Yayın Dağıtım.
- Vašut, R. J., & Majeský, Ľ. (2015). *Taraxacum pudicum*, a new apomictic microspecies of T. section *Erythrosperma* (Asteraceae) from Central Europe. *Phytotaxa*, 227(3), 243-252.
- Wang, Y., Lan, Y., Ye, H., Feng, X., Qie, Q., Liu, L., & Chai, M. (2023). Reproductive Biology and Breeding Systems of Two *Opisthopappus* Endemic and Endangered Species on the Taihang Mountains. *Plants*, 12(10), 1954.
- Widen, B. 1987. Population biology of *Senecio integrifolius* (Compositae), a rare plant in Sweden. - *Nord. J. Bot.* 7: 687-704. Copenhagen. ISSN 0107-055X.

- Yankova-Tsvetkova, E., Yurukova-Grancharova, P., Baldjiev, G., & Vitkova, A. (2016). Embryological features, pollen and seed viability of *Arnica montana* (Asteraceae)—a threatened endemic species in Europe. *Acta Botanica Croatica*, 75(1), 39-44.
- Yankova-Tsvetkova, E., Ilieva, I., Stanilova, M., Stoyanov, S., & Sidjimova, B. (2018). Reproductive biology of the endangered Bulgarian endemic *Centaurea ahtarovii* (Asteraceae). *Biologia*, 73, 1163-1175.
- Zeng, J. J., Xiao, Y. A., & Sun, M. (2010). Reproductive traits associated with invasiveness in *Coreopsis lanceolata*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 34, 966–972.
- Zhang, Y., Wu, H., Hörandl, E., de Oliveira Franca, R., Wang, L., & Hao, J. (2021). Autonomous apomixis in *Praxelis clematidea* (Asteraceae: Eupatorieae), an invasive alien plant. *AoB Plants*, 13(2), plab007.



ÖZGEÇMİŞ

Rabia SAĞAN, İlköğrenimini Atapark İlköğretim Okulu'nda bitirdikten sonra lise eğitimini 2011 yılında Genç Osman Lisesi'nde tamamladı. 2011-2012 öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. Eğitimine üç yıl ara verdikten sonra, 2020 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Botanik Anabilim dalında tezli yüksek lisans programına başladı. 2022 yılından itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

