

***Biebersteinia multifida* DC. ve *Biebersteinia orphanidis* Boiss. (Biebersteiniaceae Stephan) Türleri Üzerinde Karyomorfolojik Araştırma**

Nilüfer Çiriğ Selçuk

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Van, Türkiye

*e-mail: nilufersel@yyu.edu.tr

Geliş tarihi/Received:11/04/2022

Kabul tarihi/Accepted:26/04/2022

Özet

Bu çalışmada taksonomik konumu uzun süredir tartışmalı olan *Biebersteinia* Steph'in Türkiye'de doğal yayılış gösteren *B. multifida* DC. ve *B. orphanidis* Boiss. türlerinin mitotik metafaz kromozomları incelenmiştir. *B. multifida* DC. türünün ortalama kromozom uzunluğu 5.88 µm, karyotip formülü $2n=10=6sm+4st$ olarak belirlenmiştir ve kromozom simetrisi 4A sınıfındadır. *B. orphanidis* Boiss. türünün ise ortalama kromozom uzunluğu 7.49µm, karyotip formülü $2n=10=6sm+4m$ olarak belirlenmiştir ve kromozom simetrisi 3A sınıfındadır.

Anahtar kelimeler: *Biebersteinia* Steph., karyomorfoloji, sistematik.

Caryomorphological Investigations on the species of *Biebersteinia multifida* DC. and *Biebersteinia orphanidis* Boiss. (Biebersteiniaceae Stephan)

Abstract

The mitotic metaphase chromosomes of *B. multifida* DC. and *B. orphanidis* Boiss. species of the *Biebersteinia* Steph, which occur naturally in Turkey and whose taxonomic position has long been debated, were investigated in this study. The mean chromosome length of *B. multifida* DC. species was 5.88 m, the karyotype formula was $2n=10=6sm+4st$, and chromosome symmetry is class 4A. The mean chromosome length of *B. orphanidis* Boiss. is 7.49m, the karyotype formula is $2n=10=6sm+4m$, and the chromosome symmetry is 3A type.

Keywords: *Biebersteinia* Steph., karyomorphology, systematic.

Giriş

Biebersteinia Stephan cinsi beş türle temsil edilen orta ve batı Asyanın dağlık ve yarı kurak bölgelerinden doğu Akdenize kadar yayılış gösteren küçük bir Asya cinsidir. Türkiye'de *B. orphanidis* Boiss. ve *B. multifida* DC türleri doğal yayılışlıdır.

Çeşitli flora çalışmalarında *Biebersteinia* Steph. türlerinin morfolojik özellikleri yayılışları ve sistematik konumları ile ilgili bilgiler mevcuttur. Ancak hala cinsin sistematik yeri tartışmalıdır. Cinsi Boissier (1867), Knuth (1912), Davis (1967), Schönbeck–Temesy (1920), Rechinger (1970) gibi bazı araştırmacılar *Geraniaceae* içerisinde ele alırken, Endlicher (1841) ve Nasır (1979) gibi bazı araştırmacılar *Biebersteiniaceae* familyasının bir cinsi olarak değerlendirmişlerdir. De Candella (1924) ise bu cinsi önce *Zygophyllaceae* içerisine yerleştirmiş fakat bazı özelliklerinden dolayı tereddüte düşerek *Rosaceae*, *Rutaceae* ya da *Geraniaceae* familyaları içerisinde yer alabileceğini belirtmiştir (Tutel,1982).

Son Angiospermae sınıflandırmalarında Thorne (1992) ve Cronquist (1981, 1988) Dahlgren (1989) ve Takhtajan (1987) Geraniaceae cinsi olarak değerlendirmişlerdir. Bortenschlager (1967) cinsin polen morfolojisini incelemiş ve cinsin *Rosacea* ve *Potentillae* ya yakın bir aile olarak değerlendirilmesi gerektiğini öne sürmüştür. Fakat bazı kimyasal veriler, anakampilotrop tohum taslağının varlığı, meyve yapısının ve tohum kabuğunun farklılığı, *Biebersteinia* Steph cinsine yakın bulunan diğer tüm taksonlardan ayırmaktadır. (Liu ve ark 2001). Türkiye florasında bu cins *Sapindales* takımında *Biebersteiniaceae* içerisinde değerlendirilmiştir. Bir taksonun sistematik yerinin belirlenmesinde temel kromozom sayısının ve yapısının bilinmesi önemlidir.

Materyal ve Yöntem

Çalışma materyali, *B.multifida* DC. (Çatal Istangoza) Türkiye’de Hakkâri Bölümünde doğal yayılış gösteren İran Turan Elementi bir türdür. *B.orphanidis* Boiss (Istangoza) ise Adana Bölümünde doğal yayılış gösteren Doğu Akdeniz (Dağ) elementidir (Güner ve ark. 2012).

B.multifida DC. Van’da Çavuştepe ve Kalecik köyü yakınlarından 1700-1800m yükseklikten kurak kayalık alanlardan toplanmıştır.

B.orphanidis Boiss. Kayseri Künye köyü Bakırdağı (B5), Niğde Mağden köyü Bolkar Dağlarından (C5) 1200-1600m yükseklikten toplanmıştır. IUCN tehlike kategorisi listesinde hassas (VU) olarak bildirilmiştir.

Steril petri kabı içerisinde 15 °C de çimlendirilen tohumların 1 cm’ye ulaşan kökleri, 8 hidroksikinolinin 0,002 mol/litre sudaki çözeltisine konularak 3 saat kadar bekletilmiş ve daha sonra 3 kısım alkol + 1 kısım glacial asetik asitten ibaret Carnoy Fiksatifine alınarak 24 saat +4 °C ‘de buz dolabında tutulmuştur.

Fikse edilen kökler daha sonra INHCI ile 15 dakika 60 °C de hidroliz edilmiştir.

Feulgen boyama metodu ile boyanan köklerin 1-2 mm lik uç kısımları alınarak ezme preparatlar hazırlanmış, mitotik metafaz safhası fotoğrafları çekilerek görüntülenmiş, her iki türe ait kromozom sayıları ve karyomorfoloji belirlenmiştir.

Kromozom kol oranları ve sentromerin yerine göre kromozomların tanımlanması Levan ve arkadaşları (1964)’e göre yapılmıştır (Çizelge 1). Karyotip simetrisi Stebbins (1971)’e göre sınıflandırılmıştır (Çizelge 2). Sentromerik İndeks =kromozomun kısa kol uzunluğu/kromozom toplam uzunluğu x100 formülü ile hesaplanmıştır. Karyogram ve İdiogram hazırlanmasında Elçi (1994, 2013) den faydalanılmıştır.

Çizelge 1. Kromozomların kol oranları ve sentromerin yerine göre kromozomların sınıflandırılması (Levan ve ark. 1964).

Sentromerin Yeri	Kromozom Sembolü	Kol Oranı (r)	Kromozom Tipi
Median Nokta	M	1.0	Median
Median Bölge	m	1.0–1.7	Median
Submedian Bölge	sm	1.7–3.0	Sub -Median
Subterminal Bölge	st	3.0–7.0	Sub -Terminal
Terminal bölge	t	7.0–∞	Terminal
Terminal Nokta	T	∞	Terminal

Çizelge 2. Stebbins (1971)'e göre karyotip simetrisinin sınıflandırılması

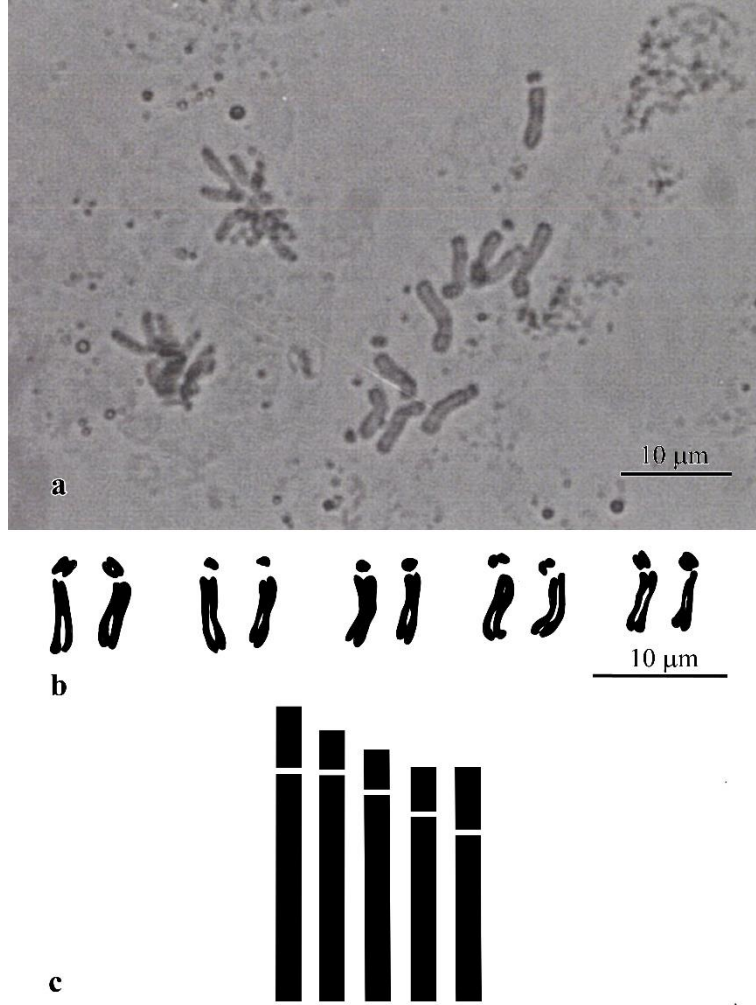
Oran	Kol Oranları <2: 1			
	En Büyük Kromozom/En Küçük Kromozom	1.00 (1)	0.99-0.51 (2)	0.50-0.01 (3) 0.00 (4)
<2:1 (A)	1A	2A	3A	4A
2:1- 4:1 (B)	1B	2B	3B	4B
> 4:1 (C)	1C	2C	3C	4C

Bulgular

Mitotik metafaz kromozomları incelenen *Biebersteinia multifida* DC ve *Biebersteinia orphanidis* Boiss. türlerinin kromozom sayısı, $x=5$, $2n=10$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 1,2).



Şekil 1. *B. multifida* DC. mitotik metafaz kromozomları a, mitotik metafaz kromozom görüntüsü. b, karyogram. c, idiogram.



Şekil 2. *B.orphanidis* Boiss. mitotik metafaz kromozomları: a,mitotik metafaz kromozom görüntüsü. b, karyogram. c, idiogram.

B.multifida DC' nin kromozomları ortalama 5.88 µm , *B.orphanidis* Boiss'in ise 7.49 µm büyüklüğündedir. *B. orphanidis* Boiss kromozomları, *B. multifida* DC kromozomlarına nazaran daha büyük kromozomlardır.

Kromozomlar sentromerin yerine göre *B. multifida* DC türünde $2n=10= 6 \text{ sm} + 4 \text{ st}$, *B. orphanidis* Boiss 'de ise $2n=10 = 6 \text{ sm} + 4 \text{ m}$ tipindedir.

Stebbins (1971) karyotip simetrisi sınıflandırmasına göre en büyük kromozom uzunluğunun en küçük kromozom uzunluğuna oranı her iki tür için de 1.2 (<2) olarak tespit edilmiştir. Medyan kromozom sayısının toplam kromozom sayısına oranına göre *B. multifida* DC.'nin 4A *B. orphanidis* Boiss'in ise 3A kategorisinde olduğu görülmektedir.

Türlerin kromozom kol oranlarının tamamı 2.0'ın üzerindedir (çizelge 3,4), bu kromozom içi (intra chromosomal) asimetrisinin yüksek olduğunu göstermektedir. Kromozomlar arasındaki (inter chromosomal) uzunluk farkı değerlendirildiğinde *B. multifida* DC düşük, *B. orphanidis* Boiss.ise daha yüksek asimetriye sahiptir.

Çizelge 3. *Biebersteinia multifida* DC. mitotik kromozom parametreleri.

Kromozom no	Kromozom tip	Kol oranı (L/S)	Oransal boy (%)	Sentromerik indeks (S/(S+L)) x100
1	sm	4	10.71	20
2	st	2.3	10.71	30
3	sm	3.5	9.64	22
4	st	2.1	10	32
5	sm	3.1	8.92	24

sm: submedyan, st:subtelosentrik.

Çizelge 4. *Biebersteinia orphanidis* Boiss. mitotik kromozom parametreleri

Kromozom no	Kromozom tip	Kol oranı (L/S)	Oransal boy (%)	Sentromerik indeks (S/(S+L)) x100
1	sm	3.5	11.58	21
2	m	6.4	10.45	13
3	m	4.8	9.88	17
4	sm	4.3	9.03	18
5	sm	2.5	9.03	28

sm; submedyan, m;medyan.

Tartışma ve sonuç

B. multifida DC.ve *B. orphanidis* Boiss türlerinin temel kromozom sayısı ile ilgili $x=5$, kayıt bulunmakla birlikte (Constantinidis 1994) detaylı karyomorfolojik araştırma daha önce yapılmamıştır. Dünyada beş türle temsil edilen *Biebersteinia* Stephan cinsinin Türkiye’de doğal yayılış gösteren iki türüne ait karyomorfolojik özellikler bu çalışmayla belirlenmiştir. Çin’de Liu ve ark (2001) tarafından yapılan çalışma ile cinsin diğer iki türü olan *B. heterostemon* Maximowicz ve *B. odora* Steph.’nın karyomorfolojisi belirlenmiş ve cinsin dört türüne ait kromozom sayısı ve yapısıyla ilgili bilgiler elde edilmiştir. Mitotik metafaz kromozomlarının uzunluğu ortalama olarak, *B. multifida*’da 5.88 μm , *B. orphanidis* de 7.49 μm olarak ölçülmüştür. *B.heterostemon*’un 5.20-6.10 μm , ve *B. odora* ‘nın 4.81-5.90 μm kromozom uzunluğunda olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2001). Sonuç olarak dört türün mitotik metafaz kromozom uzunlukları birbirine yakındır.

Sentromerik indeks hesaplamaları, *B. multifida* mitotik kromozomlarının $2n=10=6sm+4st$, *B. orphanidis* kromozomlarının ise $2n=10=6sm+4m$ karyotip yapısında olduğunu göstermiştir. Diğer iki türün karyotipi $2n=10=8sm+2m$ olarak bildirilmiştir (Liu ve ark., 2001). Bu cinsin kromozomları ağırlıklı olarak submedyan yapıdadır. Diğerlerinden farklı olarak *B. multifida* akrosentrik kromozoma sahiptir bununla birlikte diğer üç türde var olan metasentrik kromozomu da yoktur.

Stebbins (1971)’e göre median kromozom sayısının toplam kromozom sayısına oranıyla belirlenen kromozom simetri durumu değerlendirildiğinde, *B.multifida*, (4A), *B. orphanidis* (3A) tiptedir. *B. heterostemon* ve *B. odora* türlerinin de (3A) tipte olduğu bildirilmiştir. Her iki türün kromozom kol oranları 2.0’ın üzerindedir ve bu kromozom içi asimetrisinin yüksek olduğunu gösterir. Taksonların sistematik yerlerinin belirlenmesi için temel kromozom sayılarının belirlenmesi önemlidir, sistematik yeri uzun süre tartışmalı olan bu cinsin temel kromozom sayısı $x=5$ tir. Daha çok *Geraniales* takımı

içerisinde *Geraniaceae* (x=7-14)'nin bir cinsi olarak değerlendirilmiş olan bitki moleküler yakınlığından dolayı *Sapindales* (x=7) içerisinde de yerleştirilmiştir. Son olarak *Biebersteinieae* Endl (Ench. Bot.: 618, 1841) ismine doğrudan ve tam bir atfla; *Biebersteinia* Steph. (1806). *Biebersteiniaceae* içerisinde yerini almıştır (Güner ve ark.,2012). Ancak sistematik olarak yerleştiği takım için daha çok veriye ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Açıklama

Bu araştırma, Prof. Dr. Özcan SEÇMEN danışmanlığında Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Nilüfer ÇİRİĞ SELÇUK tarafından hazırlanan doktora tez çalışması temel alınarak yeni veriler ile desteklenerek üretilmiştir.

Kaynaklar

- Boissier, E. (1867). *Biebersteiniae in flora Orientalis*. Vol.1, H. Georg, Basilee. Cenevre pp.899-900.
- Bortenschlager, S. (1967). Vorläufige mitteilungen zur pollenmorphologie in der sequences from der Geraniaceen und ihre systematische Bedeutung. *Grana Palynol.* 7:400-468.
- Constantinidis, T. A. (1996). *Biebersteinia orphanidis* Boiss. *Flora Mediterranea* 6:308-312.
- Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of the flowering plants*. Columbia University press. Newyork. 828-831.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. 2nd.edn. New York Botanical Garden. Newyork.
- Dahlgreen, R. T. (1989). *The last dahlgrenogram system of classification of the dicotyledones*. In K.Tan (ed). The Davis and Hedge Festschrift. Edinburg University Press. Edinburg. 249-260.
- Davis, P. H. (1967). *Flora of Turkey and the east aegean island*. Volume 2. Edinburg. 450-451.
- De Candolle, A. P. (1924). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis. sive enumerato contracta ordinum generum specierumque plantarum*. Vol.1. Argentorati and Londini. Paris. pp.707.
- Elçi, Ş. (1994). *Sitogenetikte araştırma yöntemleri ve gözlemler*. Yüzüncü Yıl Üniv. Yayınları 18 Van. 238 s.
- Elçi, Ş., Sancak, C. (2013). *Sitogenetikte araştırma yöntemleri ve gözlemler*. Ankara Üniversitesi Yayınevi, Ankara, 227 s.
- Endlicher, S. L. (1841). *Biebersteiniaceae*. In *Enchiridion botanicum*. W.Engelman Leipzig.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Babaç, M. T. (edlr). (2012). *Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği yayını. İstanbul.
- Liu, J. Q., Ho. T. N., Chen. S., Lu. A. (2001). Karyomorphology of *Biebersteinia* Stephan (Geraniaceae) and its systematic and taxonomic significance. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42:61-66.

- Knuth, R. (1912). *Biebersteinia* Steph. In: Engler A, ed. *Das Pflanzenreich*, vol. 53. Berlin, 546–549.
- Knuth, R. (1912). *Geraniaceae* in: A. Engler (ed.). *Das Pflanzenreich* IV.129. Berlin. Pp.1-640.
- Levan, A. Fredga, K., Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
- Nasır, J.Y. (1979). *Biebersteiniaceae in flora of west Pakistan*. Islamabad.129, 1-3.
- Rechinger, K. H. (1970). *Flora Iranica. Volume:63, Geraniaceae*. Akademische Druck und Verlagsanstalt Graz. Salzburg
- Stebbins, G. L. (1971). *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold (Publishers)Ltd. London.
- Tutel, B. (1982). Comparison of the taxonomy and leaf anatomy of the genus *Biebersteinia* with the other genera of *Geraniaceae* of Turkey. *İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*.B:4748:5186.
- Takhtajan, A. (1987). *Systema Magnoliophytorum*. Officina Editoria “Nauka”, Leningrad.
- Thorne, R. F. (1992). An updated phylogenetic classification of the flowering plants. *A Journal of Systematic and Evolutionary Botany* Aliso 13:365-389.