

The genomic DNA isolation methods comparative analysis upon some *Sideritis* (Labiatae) and *Serratula* (Asteraceae) taxa

Emre SEVİNDİK¹, Fatih COŞKUN², Nur Gökçe ÇETİNER³, Selami SELVİ^{*4}, Necla ŞAHİN²

¹ Ardahan Üniversitesi Göle Meslek Yüksek Okulu, Göle- Ardahan, Türkiye

² Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Çağış- Balıkesir, Türkiye

³ İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırmaları Enstitüsü, Moleküler Tıp, İstanbul, Türkiye

⁴ Balıkesir Üniversitesi Altınoluk Meslek Yüksekokulu, Altınoluk- Balıkesir, Türkiye

Abstract

There are different protocols for DNA isolation from plants. Due to variation in chemical composition of plants, different DNA isolation methods may be necessary for closely related species. In this study, some species belonging to aromatic plant genus *Sideritis* L. (*Sideritis vulcanica* Hub.-Mor., *Sideritis montana* L. subsp. *montana*, *Sideritis gulendamae* H. Duman et Karavelioğulları, *Sideritis congesta* P.H. Davis et Hub.-Mor. and *Sideritis tmolea* P.H. Davis) and some species belonging to the genus *Serratula* L. (*Serratula bornmuelleri* Azn, *Serratula haussknechtii* Boiss., *Serratula serratuloides* (DC) Takht., and *Serratula hakkiarica* P.H. Davis) were used. The methods used in this investigation included Phenol-chloroform-isoamyl alcohol isolation procedure, CTAB DNA isolation procedure, and procedure from a commercial kit. Purity and the amount of obtained gDNAs were determined via gel electrophoresis and spectrophotometry (A_{260}/A_{280}). Analysis of the results suggested that the CTAB method was the most appropriate for genomic DNA isolation from the taxa in question, to obtain the greatest amount in 1 µl stock solution as the ng amount.

Key words: genomic DNA isolation, PCR, *Sideritis*, *Serratula*

----- * -----

Genomik DNA izolasyon metotlarının bazı *Sideritis* (Labiatae) ve *Serratula* (Asteraceae) taksonları üzerinde karşılaştırmalı analizi

Özet

Bitkilerden genomik DNA izolasyonu için farklı izolasyon metotları bulunmaktadır. Bitkilerin kimyasal içerikleri farklı olduğundan birbirine yakın türler için bile farklı DNA izolasyon yöntemleri gerekebilir. Bu çalışmada aromatik bitkilerden *Sideritis* L. cinsine ait bazı taksonlar (*Sideritis vulcanica* Hub.-Mor., *Sideritis montana* L. subsp. *montana*, *Sideritis gulendamae* H. Duman et Karavelioğulları, *Sideritis congesta* P.H. Davis et Hub.-Mor. ve *Sideritis tmolea* P.H. Davis) ile *Serratula* L. cinsine ait bazı taksonlar (*Serratula bornmuelleri* Azn, *Serratula haussknechtii* Boiss., *Serratula serratuloides* (DC) Takht. ve *Serratula hakkiarica* P.H. Davis.) kullanılmıştır. Bu çalışmada fenol-kloroform-izoamil alkol izolasyon protokolü, CTAB protokolü ve ticarî DNA izolasyon kiti (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. Elde edilen gDNA örneklerinin miktarları ve saflık dereceleri jel elektroforezi ve spektrofotometre (A_{260}/A_{280}) ölçümleriyle belirlenmiştir. Taksonlar üzerinde yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, 1 µl stokta ng cinsinden en çok DNA elde edilmesini sağlayan yöntemin CTAB olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: genomik DNA izolasyonu, PCR, *Sideritis*, *Serratula*

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: 905302212679; Fax.: 902663961509; E-mail: sselvi2005@gmail.com

1. Giriş

Türkiye, 12000 civarında eğrelti ve tohumlu bitki taksonu ile dünyada bulunduğu iklim kuşağında oldukça zengin floraya sahip ülkelerden biridir (Yücel vd., 2012). Bu zengin floramız içerisinde sekonder metabolitlerce zengin tıbbi ve aromatik bitkiler de önemli bir yer teşkil etmektedir. *Sideritis* L. (Labiatae) ve *Serratula* L. (Asteraceae) cinsleri de sekonder metabolitler bakımından zengindir. *Sideritis* ülkemizde 55 taksonla temsil edilirken (Güvenç ve Duman, 2010); *Serratula* cinsi 17 taksonla temsil edilmektedir (Davis ve Kupicha 1975; Davis vd., 1988).

Sideritis cinsleri Türkiye’de “Dağ çayı”, “Yayla çayı”, “Ada çayı” gibi yöresel isimlerle anılmakta ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonları halk arasında soğuk algınlığı, öksürük, diüretik ve mide-bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Güvenç ve Duman, 2010; Çarıkçı vd., 2012). *Serratula* cinslerinin ise halk arasında kullanımı bilinmemekle birlikte, içerdiği sekonder metabolit bileşikler (özellikle ecdysteroid, gliserolipit ve flavonoidler) üzerinde çok sayıda kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal çalışmalar yapılmıştır (Bathori vd., 2003; Dai ve Hou, 2001; Delbecque vd., 1995; Delbecque vd., 2003).

Bitki türlerinin morfolojik karakterlerine dayalı yapılan taksonomik sınıflandırma, bitkinin yaşına, fizyolojik durumuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermekte ve bazen yeterli olmamaktadır (Havey, 1991). Ayrıca, morfolojik özellikleri birbirine çok yakın olarak görülen gruplar genetik olarak birbirinden çok farklı da olabilmektedir. Bu olumsuzlukları gidermek için geliştirilen moleküler genetik markırlar bitkilerdeki genetik çeşitliliğinin ortaya konmasında, bitki türleri arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin doğru bir şekilde belirlenmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Yang ve Quiros, 1993).

Moleküler genetik araştırmaların ilk adımı genomik DNA’nın saf bir şekilde elde edilmesidir. Genomik DNA’nın elde edilmesi hücre zarının eritilmesi, proteinlerin parçalanması, proteinlerin ortamdan uzaklaştırılması ve DNA’nın çöktürülerek saflaştırılması gibi başlıca adımları içerir (Bozkaya, 2012). Türlerin belirlenmesi için yapılan DNA temelli çalışmalar; RAPD, RFLP, genom haritası, DNA parmak izi gibi çalışmalardır. Bu teknikler için yüksek saflıkta DNA’ya ihtiyaç vardır. Pek çok bitki türünde başarıyla uygulanan DNA izolasyon protokolleri mevcuttur. Ancak bitkiler arasında biyokimyasal açıdan oldukça farklı kompozisyonlar bulunmaktadır. DNA izolasyonu, yapılarında yüksek oranda fenoller, ketonlar, aldehitler, polisakaritler gibi sekonder metabolitleri içeren bitkilerde problemlili olabilir (Aydın ve Köçkar, 2008).

Bu çalışmada iki farklı familyaya ait taksonlar üzerinde genomik DNA izolasyon metotları araştırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan taksonlar, içerdiği bileşikler sebebiyle tıbbi ve ekonomik açıdan da önemlidir. Bu çalışma ile; taksonların moleküler yapılarına dayalı sistematüğının aydınlatılması için gerekli olan uygun moleküler yöntemlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır ve ileride bu cinslerle yapılacak moleküler çalışmalara katkı sağlaması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Bitki Örnekleri:

DNA izolasyonu için toplanan *Serratula* ve *Sideritis* cinslerine ait taksonlar ve toplanma lokaliteleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Sideritis* ve *Serratula* taksonlarının toplandığı lokaliteler.

Table 1. Collection localities of the *Sideritis* and *Serratula* taxa.

Taksonlar	Lokaliteler
<i>Serratula bornmuelleri</i>	B6 Malatya: Darende, Akçatoprak yol ayrımı civarı, kurumuş dere yatağı kenarları, 17.06.2010, Bekir Doğan, A. Duran, E. Martin
<i>Serratula haussknechtii</i>	B9 Muş: Malazgirt, Karıncalı köyü, tarla kenarları, 14.07.2010, Bekir Doğan, A. Duran, E. Martin
<i>Serratula hakkariica</i>	C9 Hakkari: Cilo dağları, Kırıkdağ, Dez deresi üstleri, 05.08.2010, Bekir Doğan, A. Duran, E. Martin
<i>Serratula serratuloides</i>	B9 Van: Gürpınar’a 15 km kala, yol kenarındaki yamaçlar, 15.07.2010, Bekir Doğan, A. Duran, E. Martin
<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	A1 Balıkesir: Erdek, Seyitgazi türbesi civarı kayalar üzerinde, 08.07.2010 H. Duman
<i>Sideritis vulcanica</i>	B7 Elazığ: Maden-Ergani yolu 3 km. 1000-1100m volkanik yamaçlar, 14.6.2009. H. Duman
<i>Sideritis tmolea</i>	B1 İzmir: Ödemiş-Bozdağ, Şişli step yamaçlar, 20.07.2009, H. Duman.
<i>Sideritis congesta</i>	C3 Antalya: Manavgat, Manavgat-Akseki yolu Hacıobası köyü çevresi, 22.07.2009 H. Duman
<i>Sideritis gulendamiiae</i>	B3 Eskişehir: Sivrihisar-Afyonkarahisar yolu, Aşağıkepen köyü’nün güney kesimleri, jipsli kayaçlar, 952 m, 17.07.2011, S. Selvi.

Toplanan taksonlara ait yaprak örnekleri, genomik DNA izolasyonu yapılarına kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.2 *DNA izolasyonları*

2.2.1 *Fenol-Chloroform-İzoamilalkol Protokolü ile İzolasyon*

Bu protokolde, izolasyon yöntemi modifiye edilmiş şeklinde kullanılmıştır (Dellaporta vd., 1983). 1 gr yaprak dokuları sıvı azot ile ezilir. Ezilen örnekler eppendorf tüplere alınır ve üzerine 600 µl izolasyon tamponu eklenir ve çözünür. Üzerine 500 µl fenol-chloroform-izoamilalkol eklenir ve santrifüj yapılır. Böylece proteinler çöker DNA üstte kalır. Oluşan süper süpernatant yeni tüpe aktarılır ve üzerine süpernatant hacmini %10 u kadar 3M NaAc, pH=5.2 eklenir. Üzerine 500 µl izopropanol eklenir. Bu aşamada DNA çıplak gözle görülür. Santrifüj yaptırılarak DNA çöktürülür ve dipte pellet oluşur. Üstteki çözelti atık şişeye konulur. Oluşan pellete 500 µl TE (10mM, pH=8) eklenir. (Pellete dokunulmadan pipetajla çözülmesi gerekir.) 5 µl RNaz A eklenir ve alt üst edilir. Pipetaj yapılır yağsı tabaka homojen hale getirilir. 30 dk $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de inkübe edilerek RNA'nın uzaklaştırılması sağlanır. Sonra tekrar 50 µl NaAc (3M) eklenir ve alt üst edilir. Daha sonra 1 ml %90 lık ETOH eklenip alt üst edilir. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 10 dk bekletilir ve bekleme süresi sona erince santrifüj yapılarak çökeltme sağlanır. Etanol boşaltılır. Üstteki süpernatant çöpe atılır, altta pellet kalır. Kalan çökelti %70 lik ETOH ile yıkanır(pipetaj yapılarak) santrifüj yapılır. Santrifüjden sonra üstteki etanol alınır ve dipte pellet kalır. Oluşan pellet %90' lık ETOH ile yıkanır ve santrifüj yapılır. Santrifüjden sonra üstteki etanol atılır. Dipte kalan pellet kurutma kağıdına yatırılarak etanolün iyice uçurulması sağlanır. Son olarak dipteki pellet 50 µl TE eklenerek iyice çözülür ve kullanıma hazır hale getirilir.

2.2.2 *CTAB DNA Protokolü ile İzolasyon*

Bitkilerden genomik DNA izolasyonu için modifiye edilmiş 2XCTAB yöntemi kullanılmıştır (İncirli vd., 2001). 1 gr bitki örnekleri sıvı azot ile havanda toz haline getirilir ve 200 µl'lik eppendorf tüplere alınır. Üzerine 500 µl CTAB buffer ve 2.5 µl β Merkaptotanol eklenir ve alt üst edilir. Bir saat $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de inkübe edilir. İnkübasyondan sonra örnekler üzerine 1.5 µl RNaz A eklenir ve $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 15 dk inkübe edilir. Örnekler su banyosundan alındıktan sonra 500 µl chloroform izoamilalkol eklenmelidir. Fakat biz kendi izolasyonumuzda fenol-chloroform-izoamilalkol eklemiş bulunmaktayız. Bu aşamadan sonra santrifüj yapılır DNA'nın çöktürülmesi sağlanır. Santrifüjden sonra tüplerde 3 farklı faz oluşur. Üst fazda DNA, ara fazda proteinler dipte ise fenol-chloroform-izoamilalkol yer alır. Üstteki faz yeni eppendorf tüplere aktarılır ve 0.08 volumde 7.5 M amonyum asetat eklenir. 0.54 volumde izopropanol eklenir ve alt üst edilir. Daha sonra 35 dk buzda inkübe edilir. İnkübasyondan sonra santrifüj edilir ve dipte pellet oluşur. Üstteki süpernatant atılır. 700 µl %70 lik ETOH eklenir ve yıkanır. Santrifüj yapılır ve dipte pellet oluşur. ETOH uzaklaştırılır. Daha sonra %90 lık ETOH ile yıkama yapılır ve santrifüj edilir. Dipte pellet oluşur ve ETOH uzaklaştırılır. Tüpler kurutma kağıtlarına yan yatırılır ve ETOH'un iyice uçması sağlanır. En son olarak pellet üzerine 50 µl TE eklenir ve pellet çözülür ve kullanıma hazır hale getirilir.

2.2.3 *Sigma DNA İzolasyon Kiti ile İzolasyonlar*

Bitki örnekleri SIGMA G2N70 Plant Genomic DNA Miniprep Kit ile izole edilmiştir. 1 gr bitki örnekleri sıvı azot ile havanda toz haline getirilir. Üzerine 350 µl lysis solution (Part A) eklenir. Daha sonra 50 µl lysis solution (Part B) eklenir ve vortex yapılır. Bu karışımın üzerine 4 µl RNaz A pipetaj yapılarak eklenir. $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 10 dk inkübasyona bırakılır. Örnekler su banyosundan alınır ve 130 µl precipitation solution eklenir. 5 dk buzda bekletilir ve akabinde santrifüj yapılır. Sıvı kısım alınır mavi filtrelili tüpe aktarılır, çökelti atılır. Santrifüj yapılır ve kolon çöpe atılır collection tüp kalır. 700 µl binding solution eklenir ve toplamda 1000 µl civarında bir hacim oluşur. Daha sonra binding kolonu hazırlanır. Bunun için kırmızı kolonlu tüplere 500 µl column preparation solution eklenir ve santrifüj yapılır. Collection tüpleri atılır kırmızı filtrelili kolonlar alınır. Böylece binding kolonu hazır hale gelir. Daha önceki basamaktaki collection tüplerdeki çözeltini 700 µl si kırmızı kolonlu yeni tüplere aktarılır santrifüj yapılır, sıvı atılır ve collection tüp kalır. Kırmızı kolonlar collection tüplere yeniden konulur. Geriye kalan 300 µl lik karışım kolondan geçirilir ve santrifüj yapılır. Sıvı ve kolon atılır. Kolon, yıkanması için yeni bir collection tüpe yerleştirilir. 500 µl wash solution eklenir ve santrifüj yapılır. Sıvı atılır collection tüp kalır. Tekrar wash solution eklenir ve santrifüj yapılır. Sıvı kolona temas ettirilmeden atılır. Kolon yeni collection tüplere yerleştirilir. Üzerine 100 µl elution solution eklenir ve santrifüj yapılır. Kolon sıvıya temas ettirilmeden alınır ve collection tüplere yerleştirilir. 100 µl elution solution tekrar eklenir ve santrifüj yapılır. Kolon atılır ve DNA'lar kullanıma hazır hale gelir.

3. *DNA Örneklerinin Saflık ve Miktar Tayini*

Tüm yöntemlerle izole edilen DNA örnekleri jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir. Bunun için %0,8 lik jel elektroforezi kullanılmıştır. Genomik DNA'nın saflığını sayısal değerlerle ifade edebilmek için spektrofotometre ile absorbans değerleri (A260/A280) ölçülmüş, saflığı ve miktarı hesaplanmıştır (Sambrook ve ark. 1989). Elde Edilen *Sideritis* ve *Serratula* taksonlarına ait DNA'ların spektrofotometrik ölçümleri, saflık miktarı ve DNA'ların miktar tayinleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Elde Edilen *Sideritis* ve *Serratula* taksonlarına ait DNAların Spektrofotometrik Ölçümleri, Safılık Miktarı ve DNAların Miktar Tayinleri (F= Fenol-chloroform-izoamilalkol, C=CTAB, S=Sigma Kiti).Table 2. Spectrophotometric Measurements, Purity Amounts, and DNA Amounts of the DNAs belonging to the *Sideritis* and *Serratula* Taxa Collected.

Taksonlar	A260	A280	Safılık aralığı	DNA miktarı
<i>Serratula bornmuelleri</i>	0.043(F)	0.031(F)	1.58(F)	86ng(F)
	0.050(C)	0.075(C)	0.86(C)	130ng(C)
<i>Serratula haussknechtii</i>	0.008(F)	0.004(F)	2.0(F)	24ng(F)
	0.330(C)	0.242(C)	1.3(C)	660ng(C)
<i>Serratula hakkiarica</i>	-0.002(F)	-0.001(F)	2.0 (F)	4ng(F)
	0.420(C)	0.505(C)	0.8(C)	840ng(C)
<i>Serratula serratuloides</i>	0.018(F)	0.009(F)	2.0(F)	42ng(F)
	0.243(C)	0.214(C)	1.3(C)	486ng(C)
<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	1.32(F)	0.090(F)	1.32(F)	238ng(F)
	0.119(C)	0.053(C)	2.24(C)	238ng(C)
	0.012(S)	0.013(S)	0.9(S)	24ng(S)
<i>Sideritis vulcanica</i>	1.44(F)	0.078(F)	1.44(F)	226ng(F)
	1.39(C)	0.056(C)	1.39(C)	156ng(C)
	1.24(S)	0.025(S)	1.24(S)	62ng(S)
<i>Sideritis tmolea</i>	0.024(F)	0.016(F)	1.5(F)	48ng(F)
	0.100(C)	0.048(C)	2.08(C)	200ng(C)
	0.004(S)	0.004(S)	1.0(S)	8ng(S)
<i>Sideritis congesta</i>	0.37(F)	0.28(F)	1.32(F)	74ng(F)
	0.62(C)	0.039(C)	1.5(C)	124ng(C)
	0.013(S)	0.013(S)	1.0(S)	26ng(S)
<i>Sideritis gulendamiae</i>	0.096(F)	0.89(F)	1.07(F)	192ng(F)
	0.13(C)	0.076(C)	1.7(C)	260ng(C)
	0.25(S)	0.020(S)	1.25(S)	50ng(S)

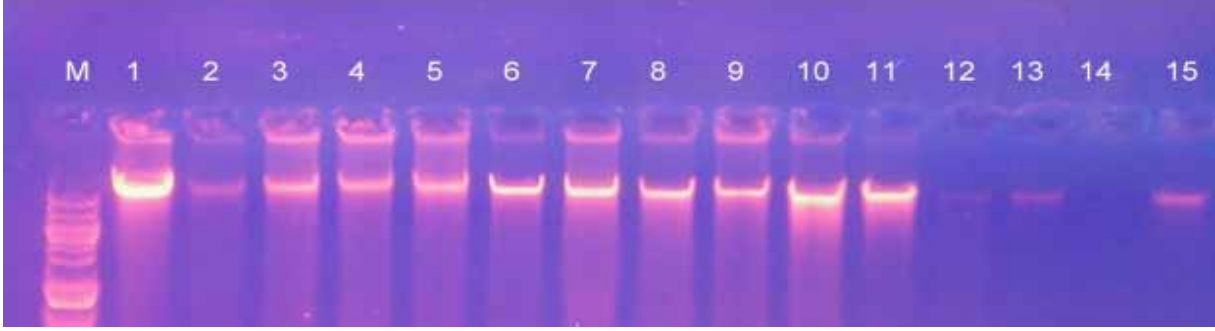
4. PZR Uygulanması

Örneklerden izole edilen DNA'nın PZR reaksiyonlarına uygunluğunu göstermek için elde edilen gDNA PZR reaksiyonunda test edilmiştir.

Her bir reaksiyon (25µl), 2,5µl MgCl₂ , 0,4µl dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 2µl kalıp DNA, DMSO 2,5µl, ITS4m ve ITS5m primerleri 2,5µl, dH₂O 10,8µl, PZR buffer 2,5µl ve Taq DNA polimeraz 0,3µl konur ve amplifikasyon işlemi şu basamaklar ile gerçekleşmiştir: 1. Döngü 95 °C de 5 dak. ve bunu izleyen denaturasyon aşaması 94 °C 45 sn 35 devir, primer bağlanma aşaması 51 °C /45sn 35 devir, uzama aşaması ise 72 °C / 2 dak. 35 devir ve son basamak 1 döngü 72 °C /10dakikadır. PZR sonucu elde edilen ürünler %0,8'lik agaroz jel elektroforezinde görüntülenip fotoğrafları çekilmiştir.

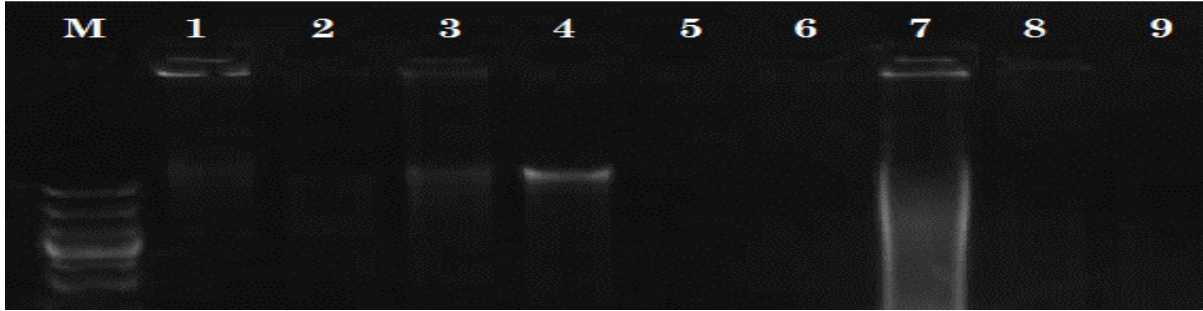
3. Sonuçlar ve tartışma

İzolasyon metotlarından sonra DNA örnekleri %0.8 agaroz jel de 100V da 40 dakika yürütülmüş ve jel fotoğrafları çekilmiştir. *Sideritis* örneklerinin gDNA jel fotoğrafı Şekil 1'de, *Serratula* örneklerinin gDNA jel fotoğrafı ise Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Farklı izolasyon protokolü ile elde edilen *Sideritis* örneklerinin gDNA Jel fotoğrafı.
Figure 1. gDNA gel image of *Sideritis* samples obtained by different isolation protocols.

FENOL-CHLOROFORM	CTAB	SIGMA
1. <i>S. vulcanica</i>	6. <i>S. vulcanica</i>	11. <i>S. vulcanica</i>
2. <i>S. montana</i>	7. <i>S. montana</i>	12. <i>S. montana</i>
3. <i>S. gulendamiae</i>	8. <i>S. gulendamiae</i>	13. <i>S. gulendamiae</i>
4. <i>S. congesta</i>	9. <i>S. congesta</i>	14. <i>S. congesta</i>
5. <i>S. tmolea</i>	10. <i>S. tmolea</i>	15. <i>S. tmolea</i>



Şekil 2. Farklı izolasyon protokolü ile elde edilen *Serratula* örneklerinin gDNA Jel fotoğrafı.
Figure 2. gDNA gel image of *Serratula* samples obtained by different isolation protocols.

FENOL	CTAB
1. <i>S. bornmuelleri</i>	6. <i>S. bornmuelleri</i>
2. <i>S. haussknechtii</i>	7. <i>S. haussknechtii</i>
3. <i>S. serratuloides</i>	8. <i>S. serratuloides</i>
4. <i>S. hakkiarica</i>	9. <i>S. hakkiarica</i>

Yapılan çalışmada *Serratula* cinsine ait 4 takson ve *Sideritis* cinsine ait 5 takson, 3 farklı DNA izolasyon metodu açısından karşılaştırılmıştır. *Sideritis* cinsine ait taksonlar üzerinde yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, 1 µl stokta ng cinsinden en çok DNA elde etmemizi sağlayan yöntem CTAB yöntemidir. CTAB yöntemi kullanılarak yapılan DNA izolasyonlarından ortalama 190 ng / µl DNA elde edilmiştir. 1 µl stok içerisindeki ng cinsinden DNA miktarlarını kıyasladığımız zaman, CTAB yöntemini Fenol-chloroform-izoamilalkol yöntemi ve Sigma ticari kit takip etmektedir. Yapılan DNA izolasyonlarından elde edilen jel fotoğraflarına bakıldığı zaman fenol-chloroform-izoamilalkol yöntemi ile elde edilen gDNA'lar daha parlak bantlar vermiştir. Fakat spektrofotometre ile miktar tayini yapıldığı takdirde, ng cinsinden DNA miktarları kıyaslandığı zaman CTAB yöntemi Fenol-chloroform-izoamilalkol yöntemine göre daha başarılı bulunmuştur.

Genel olarak değerlendirdiğimiz de; farklı türler veya farklı cinsler için farklı izolasyon protokolleri gerekebilir. Fenol-chloroform-izoamilalkol yöntemi uygulanması kolay ve ucuz bir yöntemdir. Fakat saf DNA elde etmek açısından *Sideritis* cinsi için zayıf bir yöntemdir. CTAB ise uygulanması zor, uzun çalışma saatleri gerektiren, β merkaptotanol gibi toksik maddelerin kullanımını içeren bir yöntemdir. Saf DNA elde etmek açısından hem *Sideritis* hem de *Serratula* cinsi için başarılı bir yöntemdir. Sigma Kiti ise kullanımı kolay, zamandan tasarruf ettiren, fakat

pahalı bir metoddur. Her ne kadar *Sideritis* cinsine yaptığımız uygulamada az miktarda DNA elde etmiş olsak ta, jel fotoğraflarında oldukça parlak bantlar elde edilmiştir. Sigma Kiti PCR'a uygunluk açısından da başarılı bir yöntemdir.

Kaynaklar

- Aydın, S.Ö., Köçkar, F. 2008. Farklı genomik dna izolasyon yöntemlerinin *Satureja* (Labiatae) türlerinde uygulanması. BAÜ FBE Dergisi. 1:52-60.
- Bathori, M., Hunyadi, A., Dinya, Z. 2003. Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various *Serratula* species and isolation of flavonoids from *Serratula coronata*", Depart. of Organic Chem.15:90.
- Bozkaya, F. 2012. DNA İzolasyonunda Fenol-Kloroform Yerine Potasyum Asetat Kullanımının DNA Miktarı ve Kalitesi Üzerine Etkisi. Harran üniv. Vet. Fak. Derg. 1/2:92-96.
- Çarıkçı, S., Kılıç, T., Azizoğlu, A., Topçu, G. 2012. Chemical Constituents of Two Endemic *Sideritis* Species from Turkey with Antioxidant Activity. Rec. Nat. Prod. 6/2: 101-109
- Dai, J.Q., Hou, Z.F. 2001. Sesquiterpenes and Flavonoids from *Serratula strangulata*. J. of the Chinese Chem. Soc. 48: 249.
- Davis P.H., Kupicha F.K. 1975. *Serratula* L. In: Davis PH (ed.) Flora of Turkey, vol. 5, pp. 452-460. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Davis PH, Mill RR & Tan K 1988. *Serratula* L. In: Davis PH, Mill RR & Tan K (eds), Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1). Vol. 10, , Edinburgh: Edinburgh Univ. Press.
- Delbecque, J.P., Beydon, P., Chapuis, L., Corio, M.F. 1995. In vitro incorporation of radiolabelled cholesterol and mevalonic acid into ecdystreoid by hairy root cultures of a plant *Serratula tinctoria*, Eur. J. Entomol. 92: 301.
- Delbecque, J.P., Beydon, P., Chapuis, L., Corio, M.F. 2003. Sterol and ecdysteroid profiles of *Serratula tinctoria*, J. Inra Bordeaux. 86:95.
- Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B. 1983. A Plant DNA Minipreparation: Version Ii". Plant Molecular Biology Reporter. 1/4:19-21.
- Güvenç, A., Duman, H. 2010. Morphological and anatomical studies of annual taxa of *Sideritis* L. (Lamiaceae), with notes on chorology in Turkey. Turk J Bot. 34:83-104.
- Havey, M.J. 1991. Phylogenetic relationships among cultivated *Allium* species from restriction enzyme analysis of chloroplast genome", Theor. Appl. Genet. 81:752.
- İncirli, A., Bilgiç, H., Akkaya, M. S. 2001. Assessment of Polymorphic AFLP Markers in *Triticum durum* and *Aegilop* sp. Turk J. Biol. 25: 291-299.
- Sambrook, J., Russell, D.W., Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York.
- Yang, X., Quiros, C. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. Theor. Appl. Genet.86:205.
- Yücel, E., Şengün, İ.Y., Çoban, Z. 2012. The wild plants consumed as a food in Afyonkarahisar/Turkey and consumption forms of these plants. Biodicon. 5/2.95-105.

(Received for publication 07 March 2013; The date of publication 15 August 2013)