

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2022-YL-090

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *LISAEA* BOISS. (APIACEAE)
CİNSİNE AİT TÜRLERİN KLOROPLAST DNA
DİZİLERİNE (*TRNL-F*, *TRNL-INTRON* VE *MATK*)
DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ**

Fadime EFE
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Emre SEVİNDİK

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı öğrencisi Fadime EFE tarafından hazırlanan “TÜRKİYE’DE YETİŞEN *LISAEA BOISS.* (APIACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN KLOROPLAST DNA DİZİLERİNE (*TRML-F*, *TRML-INTRON* VE *MATK*) DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/10/2022

Ünvanı, Adı Soyadı.	Kurumu	İmza
Üye (T.D.). :Doç. Dr. Emre SEVİNDİK-	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :Prof. Dr. Eyyüp Mennan YILDIRIM-	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :Doç. Dr. Hüseyin UYSAL-	Akdeniz Üniversitesi	

ONAY: Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Fen Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

..... Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın yűrűtűlmesi sırasında desteęini esirgemeyen sayın danıőmanım Doç. Dr. Emre SEVİNDİK' e, sevgisini ve inancını her zaman hissettięim aileme ve yoęun çalıőmalarım sırasında her zaman arkamda durup beni motive eden deęerli arkadaőım Mustafa Can KILIÇ'a sonsuz teőekkűr ediyorum.

Lisaea tűrlerinin araziden toplanması ve tűr teőhisini yapan Munzur Ŭniversitesi, Tunceli Meslek Yűksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bűlűműnden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY'a teőekkűrlerimi sunuyorum.

Bu tez çalıőmasının gerçekleőmesi adına destek olan Aydın Adnan Menderes Ŭniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeler Birimi'ne (Proje No: ZRF-21008) teőekkűr ederim.

Fadime EFE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Lisaea</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgiler	2
1.2. Moleküler Markırlar ve Bitki Biyoteknolojisindeki Yeri.....	3
1.2.1. Kloroplast DNA (cpDNA).....	4
1.2.2. <i>trnL-F</i> Gen Bölgesi.....	5
1.2.3. <i>trnL</i> -intron Bölgesi	6
1.2.4. <i>matK</i> Gen Bölgesi.....	7
1.3. Filogenetik Ağaç Metotları.....	8
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Çalışma Materyalleri	15
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Yöntem ve Kimyasallar	16
3.1.2.1. Genomik DNA İzolasyonu	16
3.1.2.2. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi	16
3.1.2.2.1. Uygulanan PZR Protokolü.....	17
3.1.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	19
3.1.2.4. PZR Sonuçlarının İşlenmesi ve Değerlendirilmesi.....	19
4. BULGULAR.....	21
4.1. PZR Sonuçları.....	21

4.2. DNA Sekansları ve Analiz Yöntemi.....	23
4.3. Filogenetik Analizlerin Yapılması.....	23
4.3.1. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait Nükleotid Frekansları.....	24
4.3.2. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait <i>trn</i> L-F, <i>trn</i> L-intron ve <i>mat</i> K Bölgelerinin Genetik Uzaklık Değerleri	25
4.3.3. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait <i>trn</i> L-F, <i>trn</i> L-intron ve <i>mat</i> K Bölgelerinin Filogenetik Analizleri	26
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR	31
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A,T,G,C	: Adenin, Timin, Guanin, Sitozin
cDNA	: Complementary Deoxyribo Nucleic Acid
CTAB	: Cetyl-N,N,N-Trimethylammonium Bromide
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromid
gDNA	: Genomik Deoksiribo Nükleik Asit
ITS	: Internal Transcribed Spacer
matK	: Maturase K
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
ML	: Maximum Likelihood
MP	: Maximum Parsimony
NCBI	: National Center For Biotechnology Information
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rbcL	: RuBisCO
RNase A	: RNA parçalayan enzim
rpm	: Dakikadaki Döngü Sayısı
TBE	: Tris-Borik asit- EDTA
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. <i>Lisaea</i> türlerinin illere göre dağılımı (TÜBİVES, 2022).	2
Şekil 1. 2. Kloroplast genomu şematik gösterimi (Wang vd., 2018).....	5
Şekil 1. 3. <i>trnL-F</i> bölgesi şematik gösterimi (Taberlet vd., 1991).	6
Şekil 1. 4. <i>trnL</i> -intron bölgesi şematik gösterimi (c,d,g ve h primerlerinin kloroplast <i>trnL</i> (UAA) geni üzerindeki konumu) (Taberlet vd., 2007).	7
Şekil 1. 5. <i>matK</i> bölgesi şematik gösterimi (Phoolcharoen ve Sukrong, 2012).	7
Şekil 3. 1. BioEdit Bilgisayar Programı	20
Şekil 3. 2. MEGA 6.0 Bilgisayar Programı	20
Şekil 4. 1 . <i>trnL-F</i> Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1: <i>Lisaea papyracea</i> , 2: <i>Lisaea papyracea</i> , 3: <i>Lisaea strigosa</i> , 4: <i>Lisaea strigosa</i> , 5: <i>Lisaea heterocarpa</i> ve 6: <i>Lisaea heterocarpa</i>)	21
Şekil 4. 2. <i>trnL</i> -intron Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1: <i>Lisaea papyracea</i> , 2: <i>Lisaea papyracea</i> , 3: <i>Lisaea strigosa</i> , 4: <i>Lisaea strigosa</i> , 5: <i>Lisaea heterocarpa</i> ve 6: <i>Lisaea heterocarpa</i>)	22
Şekil 4. 3. <i>matK</i> Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1: <i>Lisaea papyracea</i> Konya Popülasyonu, 2: <i>Lisaea papyracea</i> , 3: <i>Lisaea strigosa</i> , 4: <i>Lisaea strigosa</i> , 5: <i>Lisaea heterocarpa</i> ve 6: <i>Lisaea heterocarpa</i>)	22
Şekil 4. 4. MEGA 6.0 Programında Hizalama	23
Şekil 4. 5. <i>trnL-F</i> Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı	27
Şekil 4. 6. <i>trnL</i> -intron Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı.....	27
Şekil 4. 7. <i>matK</i> Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1. <i>Lisaea</i> türlerine ait özellikler (TÜBİVES, 2022).....	3
Çizelge 1. 2. Filogenetik ağaç oluşturmada kullanılan programlar	10
Çizelge 3. 1. Toplanan bitki örneklerine dair bilgiler.....	15
Çizelge 3. 2. DNA izolasyon kiti kullanım bilgileri.....	16
Çizelge 3. 3. Kullanılan primerlere ait baz dizileri.....	17
Çizelge 3. 4. <i>trnL-F</i> primeri için uygulanan PZR protokolü	18
Çizelge 3. 5. <i>trnL</i> -intron primeri için uygulanan PZR protokolü.....	18
Çizelge 3. 6. <i>matK</i> Primeri İçin Uygulanan PZR Protokolü	18
Çizelge 4. 1. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait <i>trnL-F</i> Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri	24
Çizelge 4. 2. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait <i>trnL</i> -intron Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri	24
Çizelge 4. 3. <i>Lisaea</i> Türlerine Ait <i>matK</i> Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri ..	24
Çizelge 4. 4. <i>trnL-F</i> Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri.....	25
Çizelge 4. 5. <i>trnL</i> -intron Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri.....	25
Çizelge 4. 6. <i>matK</i> Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri.....	26

ÖZET

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *LISAEA* BOISS. (APIACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN KLOROPLAST DNA DİZİLERİNE (*TRNL-F*, *TRNL-INTRON* VE *MATK*) DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ

EFE F, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Aydın, 2022

Amaç: Bu çalışma ile Türkiye'de yayılış gösteren Apiaceae familyasına ait *Lisaea* türlerinin kloroplast genomunda yer alan *trnL-F*, *trnL-intron* ve *matK* gen bölgeleri incelenerek moleküler sistematik analizleri yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem: Çalışmada kullanılan bitki örnekleri DNA izolasyon kiti ile izole edilip ardından üç farklı primer (*trnL-F*, *trnL-intron* ve *matK*) ile PZR işlemi uygulanmıştır. Elde edilen PZR ürünleri her bir primer için ayrı ayrı elektroforez cihazında yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda jel görüntüsü incelendiğinde bantların varlığı tespit edilmiştir. Kullanılan PZR ürünlerinin seansları yapıldıktan sonra ise MEGA 6.0, BioEdit ve Finch TV programları kullanılarak çeşitli parametreler ile filogenetik analizler yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmadaki filogenetik ağaçlar ML (Maximum Likelihood) yöntemi ile oluşturulmuştur. Üç farklı primer ile çalışılan DNA örneklerine ait her bir primer için parametreler oluşturulmuştur. *trnL-F* için oluşturulan ağaç 3 gruba, *trnL-intron* için oluşturulan ağaç 4 gruba ve *matK* için oluşturulan ağaç 3 gruba ayrılmıştır.

Sonuç: Analizler yapılırken oluşturulan karakter temelli algoritma olan maximum likelihood ağaç topolojisi kullanılarak filogenetik ilişkileri incelenmiş, önceki çalışmalardaki veriler ile kıyaslanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda elde etmiş olduğumuz verilerin güvenilir sonuçlar verdiği doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lisaea*, *trnL-F*, *trnL-intron*, *matK*, Filogenetik

ABSTRACT

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *LISAEA* BOISS. (APIACEAE) SPECIES IN TURKIYE BASED ON CHLOROPLAST DNA (*trnL-F*, *trnL-INTRON* AND *matK*) SEQUENCES

EFE F, Aydın Adnan Menderes University, Institute of Science, Department of Agricultural Biotechnology, M.Sc. Thesis, Aydın, 2022

Objektive: In this study, the *trnL-F*, *trnL-intron* and *matK* gene regions in the chloroplast genome of *Lisaea* species belonging to the Apiaceae family distributed in Türkiye were examined and molecular systematic analyzes were made.

Materyal and Methods: The plant samples used in the study were isolated with a DNA isolation kit and then PCR was applied with three different primers (*trnL-F*, *trnL-intron* and *matK*). The obtained PCR products were carried out separately for each primer in an electrophoresis device. The presence of bands was detected when the gel image was examined as a result of the electrophoresis process. After the sessions of the PCR products used, phylogenetic analyzes were made with various parameters using MEGA 6.0, BioEdit and Finch TV programs.

Resulun: The phylogenetic trees in the study were created by the ML (Maximum Likelihood) method. Parameters were created for each primer of the DNA samples studied with three different primers. The tree created for *trnL-F* was divided into 3 groups, the tree created for *trnL-intron* was divided into 4 groups, and the tree created for *matK* was divided into 3 groups.

Conclusion: Phylogenetic relationships were determined by molecular systematic analyzes of *trnL-F*, *trnL-intron* and *matK* gene regions of *Lisaea* genera distributed in Turkey. It has been verified that the data we have obtained in line with this information gives reliable results.

Key Words: *Lisaea*, *trnL-F*, *trnL-intron*, *matK*, Phylogenetic

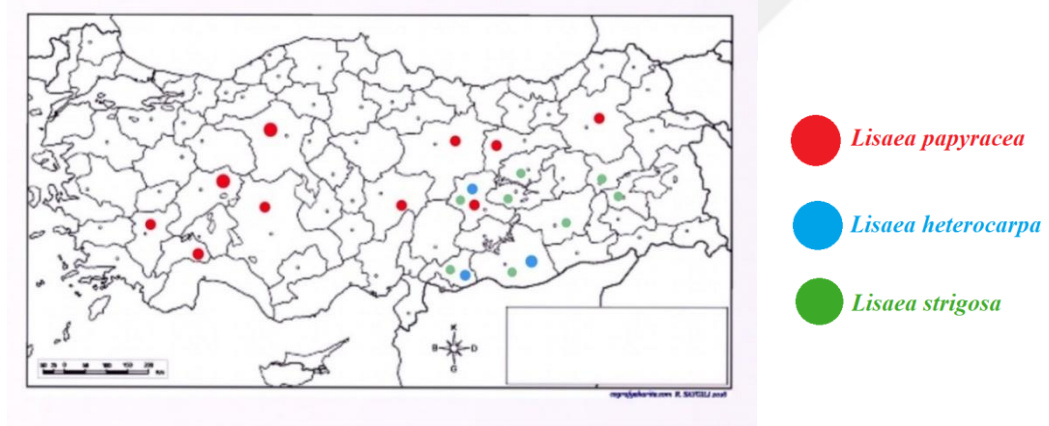
1. GİRİŞ

Apiaceae (Kerevizgiller, Maydanozgiller) familyası ismini kerevizden (*Apium L.*) almıştır. Familyanın takson zenginliği ve örnek sayıları baz alınarak oluşturulan önem sırasında 4. sıradadır. Bu sıralama Ranunculaceae, Caryophyllaceae, Rosaceae ve Apiaceae şeklindedir. Apiaceae familyası kapalı tohumlu bitkiler grubundaki en fazla yayılış gösteren kozmopolit familyalardan biridir (Pimenov ve Leonov, 1993; Hickey ve King, 1997). Bu familyaya ait dünya genelinde 455 cins ve 3700 civarı tür bulunmaktadır (Pimenov ve Leonov, 1993; Pimenov ve Leonov, 2004). Bu bitkilerin en çok kullanıldığı alanlar ise besin, ilaç, baharat ve yem sanayisidir. Türkiye’de ise Apiaceae familyasının 101 cins ve 485 türü yayılış göstermektedir. Bu büyük familyanın endemizm oranı ise %37,3’tür (Güner vd., 2012). Bu bitki grubu tek, iki yada çok yıllık çalı bitkileri arasında yer almaktadır (Heywood, 1971; Pimenov, 1979; Seçmen, 1995). Apiaceae familyasına ait bitkilerin yaprakları genelde alternat (yapraklar arası belirli açısız dizilim) yapıda yada dairesel şekilde dizilmiş pinnat (bileşik yaprak) yapıdadır (Davis, 1972; Seçmen, 1995). Dikotiledon yapıya sahip olan familya üyeleri bu özelliğinden dolayı tohum, çiçek ve geniş ağsı yapılı yapraklar bulundurmaktadır (Yakışan vd., 2007). Bu familyası genel olarak tanımlanan ilk çiçekli bitki familyasıdır (Constance, 1971). Bu önemli bitki familyasının tanımlanmasına yol açan bilim insanları sırasıyla De Candolle (1830) ile Bentham ve Hooker (1867)’dir. Yapılan en kapsamlı ilk çalışma ise Drude (1898) tarafından ortaya atılmıştır (Downie vd., 2000). Apiaceae familyası koku ve tat enzimatığıne sahip olmasından dolayı aromatik bitkilerin çoğunu barındırmaktadır. Bu komponentlerin oranları bitkiden bitkiye genetik yapıları gereğince farklıdır (Önenç ve Açıkğöz, 2005). Sekonder metabolitler ve uçucu yağları yüksek oranda içermelerinden dolayı da familya üyelerinin kullanım alanlarını da beraberinde getirmiştir. Asya coğrafyasında yapılan ilaçların büyük kısmı Apiaceae türlerinden elde edilen özütlerden oluşmaktadır. Bu ilaçlar ağrı kesici, deri hastalıkları ve bağışıklık sistemine destek olması için kullanılmaktadır (Lee ve Rasmussen, 2000). Familyanın içerdiği bileşiklerden kumarin oranının yüksek olduğu bilinmektedir. Kumarin, oral yolla kullanıldığında kimyasal yapısındaki değişmeler sonucu toksik olabilmektedir. Kumarinin yoğun olduğu bu bitki türleri aromatik kokusu sayesinde günümüzde daha çok hoşça gitmeyen kokuları absorbe etmek amacı ile parfümeri sanayinde fiksator olarak kullanılmakta ve insektisitlerde koku verici olarak da faydalanılmaktadır (Guenther, 1975). Yoğun ve kendine has kokuları olan bu bitki türleri genelde otsu yapıda olmalarından dolayı hayvan beslenmesi ve yem gıda katkısı olarak da

kullanılmaktadır. Çalışma materyali olarak kullanılan *Lisaea* cinsi de otsu halde bulunan türlerdendir (Öztürk ve Özçelik, 1991).

1.1. *Lisaea* Cinsi Hakkında Genel Bilgiler

Lisaea cinsi adını 1801-1867 yılları arasında sardunya florasını inceleyen İtalyan Domenico Lisa isimli biyologdan almıştır. *Lisaea* dünyada Kafkasya ve Arap yarım adasında dağılım göstermektedir. Güneybatı Asya'da üç türü, Irak'ta ise iki türü bulunmaktadır. Buldukları alanlar genellikle bozkırlar, çorak araziler, çöller, tarla ve bağlardır. Buralarda yabancı ot olarak yayılış göstermektedirler. *Lisaea* türünün genel renkleri pembe ve beyaz olarak polimorfizm göstermekte ve taç yaprakların tam ortasında çok sayıda filament bulunur. Gövdesinde kısa yumuşak tüyler bulundurmakta ve çanak yaprakları küçüktür (POWO, 2017).



Şekil 1. 1. *Lisaea* türlerinin illere göre dağılımı (TÜBİVES, 2022).

Türkiye'de toplamda 3 *Lisaea* türü bulunmaktadır. Bu türlerin Türkiye'de coğrafik dağılımı Şekil 1.1'deki gibidir. Bu türler *Lisaea heterocarpa*, *Lisaea papyracea* ve *Lisaea strigosa*'dır. Türkiye'de bulunan bu bitkilerin genel özellikleri Çizelge 1.1'deki gibidir. Türkiye'de Tunceli ilinde ölçülen morfometrik sonuçlara göre ise *Lisaea strigosa* türünün boyları 50-65 cm arasında değişmekte ve uçucu yağ bileşenlerinin %98.6'sına eş değer 8 bileşen kaydedilmiştir. Bu bileşenler: α -biskolol (%25,4), (-) spathulenol (%22,5), karyofillen (%20,8) 'dir (Damış, 2016).

Çizelge 1. 1. *Lisaea* türlerine ait özellikler (TÜBİVES, 2022).

Tür İsmi	<i>Lisaea papyracea</i>	<i>Lisaea heterocarpa</i>	<i>Lisaea strigosa</i>
Ömür (Tek Yıllık)	+	+	+
Otsu Yapı	+	+	+
Çiçek Sayısı	6	5	5-6
Habitat	Tarlalar ve Tarım Alanları	Tahıl tarlaları, Nadas tarlaları ve Bağlar	Bozkır, Tarlalar ve Çorak araziler
Endemik	-	-	-
Köken	İran-Turan	İran-Turan	İran-Turan
Türkiye'deki Konumu	İç Anadolu	Güneydoğu Anadolu	Doğu Anadolu
Genel Dağılımı	Kafkasya	İran ve Ermenistan	Suriye Çölü, Filistin ve Kuzey Irak

1.2. Moleküler Markırlar ve Bitki Biyoteknolojisindeki Yeri

Moleküler markır teknolojisi ilk olarak 1983 yılında Karry Mullis ve çalışma arkadaşları tarafından yarı korunumlu DNA parçalarını çoğaltmak istemeleri üzerine PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) teknolojisini geliştirmeleri ile başlamıştır (Saiki vd., 1988). Geçmişten günümüze kadar yapılan DNA üzerindeki çalışmaların ve biyoteknolojinin entegrasyonu ile geleneksel uygulamaların yerini moleküler markır teknolojisi almaktadır (Moose ve Humm, 2008). Moleküler markırlar DNA boyutundaki polimorfizmi ortaya koyduğundan dolayı genetik çalışmalarında da giderek artan popülerliğe ulaşmıştır. Bu popülerlik bitki ıslahı ve sistematik sınıflandırma çalışmaları ile moleküler bitki araştırma çağını başlatmıştır (Ahmad vd., 2010). Genetik polimorfizm olarak adlandırılan tanım ise bir popülasyondaki aynı lokusta bulunan genetik kodun iki ve üzeri farklı alleller bulundurmasıdır. Bitkiler üzerinde de bu farklılıkları belirlemek için moleküler markırlar çeşitlerinden DNA markırları, bitkilerden kolay bir şekilde DNA izole edilebilmelerinden dolayı iyi bir seçimdir (Kumar, 2009). Günümüzde bitkiler üzerinde yapılan sistematik çalışmalarda DNA markırları özelliklerini çalışılan hücrelerdeki DNA'lardan almaktadırlar. Bu yüzden bitki popülasyonunda ki genotipler arası farkların tespit edilmesinde %100'e yakın sonuçlar ile değerlendirilebilmesinden dolayı bitki sistematigi ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

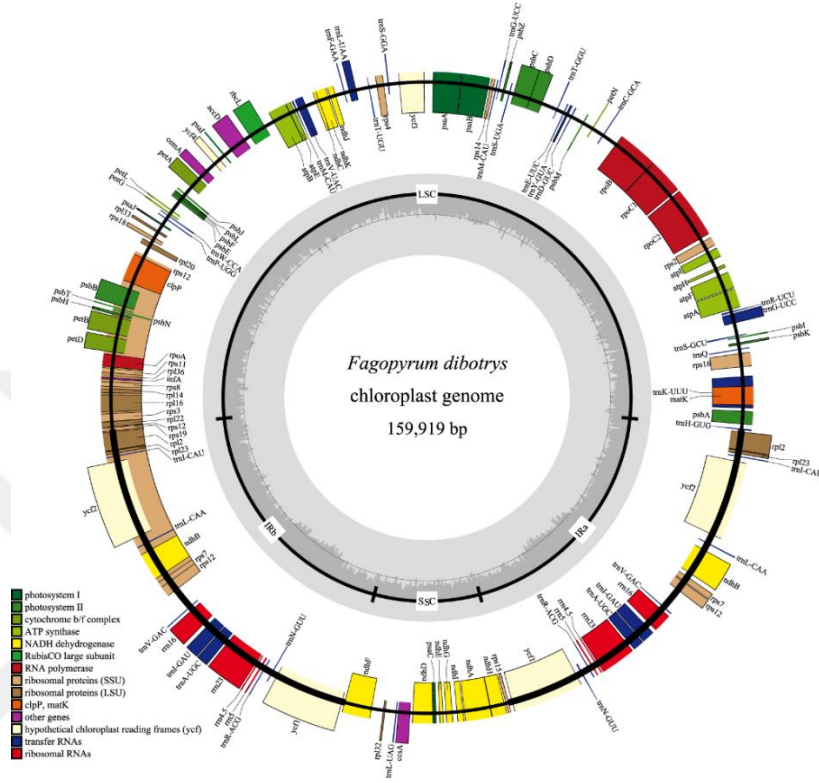
DNA markırının taşınması gereken bazı özellikleri bulunmaktadır bunlar:

- 1) Genetik çeşitlilik belirlemesi amacıyla yüksek polimorfizm içermesi,
- 2) Kodominant yapıda olmaları (diploid organizmaların homozigot ve heterozigot durumlarını ayırt edebilmeli),
- 3) Genom üzerindeki markır sık sık tekrar edilebilmelidir,
- 4) Ulaşılabilirliği, kolay erişimi olmalıdır,
- 5) Hızlı ve kolay sonuç vermelidir,
- 6) Çok sayıda tekrarlanabilirlik kapasitesine sahip olmalıdır (Weising vd., 1995).

1.2.1. Kloroplast DNA (cpDNA)

Yakın geçmişte moleküler biyoloji, bitki genetiği ve bitki filogenisi araştırmalarında sıklıkla kullanılan kloroplast DNA'sı bitki genetiği araştırmaları için uygun bir genomdur. Kloroplastlar aynı mitokondri gibi kendi genetik sistemleri olan organellerden biridir (Türkan, 2007). Kloroplastların yapısı organizmalar sınıfında prokaryotlara benzemektedir ve içerisinde ribozomlar barındırmaktadır. Bundan dolayı kloroplastta DNA replikasyonu gerçekleşmekte ve oluşan yeni DNA zincirleri de yeni organelere aktarılmaktadır (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Şekil 1.2'de görüldüğü üzere kloroplast DNA'sı halkasal forma sahip olup, 120-160 kb uzunluğunda ve yaklaşık içerisinde 120 ayrı gen bulundurmaktadır. Tek bir kloroplast organeli ortalama 4000 protein içermekte ve bunlardan 100'ü kloroplast genomu tarafından kodlanır (Türkan, 2007). Kloroplast, fotosentez yapan, birçok hücrel metabolitleri üreten ve bitkinin dış ortamındaki değişiklikleri algılayan bir organeldir. Kloroplastların endosimbiyotik kökenleri göz önüne alındığında, bağımsız genomlarını ve gen ekspresyon mekanizmalarını koruduğu görülmektedir. Kloroplastların prokaryot atalardan beri gelen genlerinin çoğu evrim süreçleri boyunca çekirdeğe de aktarılmıştır. Bunun yanında, çevresel stres koşullarında ya da genetik boyutta değişimleri ve farklılıkları da oluşmaktadır. Bunun gibi değişimlerin bitkilerdeki farklılıkları anlayabilmek için gen ekspresyonlarını iyi çözümlenmek önemlidir (Zhang, 2020). DNA barkodlanmasına, mevcut taksonomik sorunların çözümünün yanında, filogenetik ilişkilerin ve tür çeşitliliği tayini gibi ilişkilerin değerlendirilmesiyle de başvurulmaktadır. Bu doğrultuda en güvenilir bölgeyi bulmak için çekirdek DNA ve plastit DNA çok fazla denetlenmektedir. Hem tür tanımlamada başarılı olabilecek kadar korunmuş ve nükleotid değişimleri farkları ile türler arası

farklılıkları ortaya koyabilecek plastit DNA sekans çalışmalarında oldukça popülerdir. Bitkilerdeki kloroplast DNA'sı bu sayede en elverişli bölgelere sahip olmasının yanında, tüm türleri içine alan evrensel bir barkod bölgesi tanımlanamamıştır (Filiz ve Koç 2012; Piredda vd., 2011; Selvaraj vd., 2008).



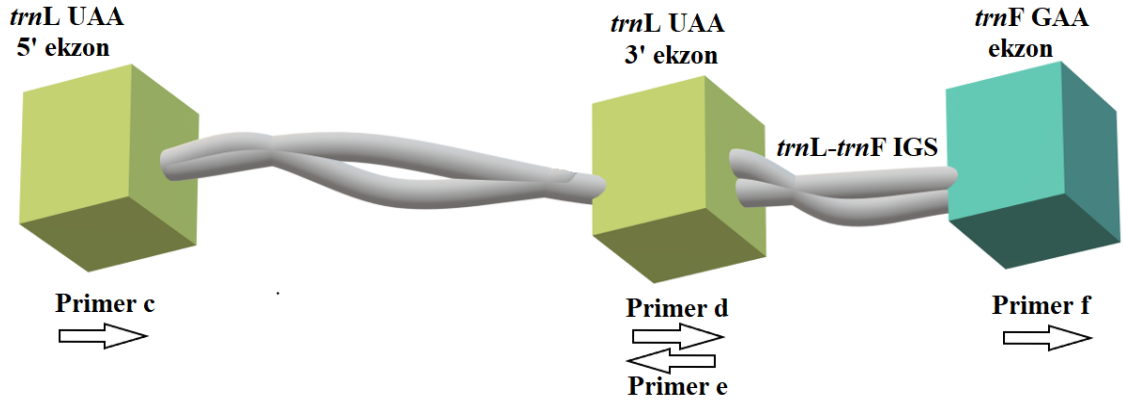
Şekil 1. 2. Kloroplast genomu şematik gösterimi (Wang vd., 2018).

Daha önce yapılmış çalışmalar incelendiğinde kloroplast genomuna ait en çok kullanılan bölgeler *rbcL*, *matK*, *trnK*, *trnH-psbA*, *atpB-rbcL*, *trnT-trnF* bölgeleridir. Bu bölgeler tek başına yada çeşitli bölgelere ile kombine edilerek de çalışmalarda kullanılabilir (Kang vd., 2017). Kloroplast DNA formu semi-konservatif olup anne tarafından kalıtımı sağlanmaktadır (Soltis, 1997). Kloroplast genomu, protein kodlayan, kodlama yapmayan ve intronlardan oluşan bölgelere ayrılmaktadır (Clegg vd., 1994).

1.2.2. *trnL-F* Gen Bölgesi

Son yıllarda kullanılan DNA taksonomisi, türlerin teşhis edilmesinde ve biyolojik çeşitliliğin belirlenmesinde faydalı bir yöntem olarak önümüze çıkmaktadır. Özellikle ITS ve kloroplast *trnL-F* bölgeleri ile bitkiler arasında filogenetik araştırmalar yapılabilmektedir (Brouat vd., 2001; Soejima ve Nagamasu, 2004). Kloroplast genomuna ait olan *trnL-F*

bölgesinin şematik gösterimi Şekil 1.3’de verilmiştir. *trnL*-F bölgesi arasındaki alan bitki sistematigi çalışmalarında sıklıkla kullanılan ve kodlanmayan DNA bölgeleri arasında bulunmaktadır (Quandt vd., 2004).

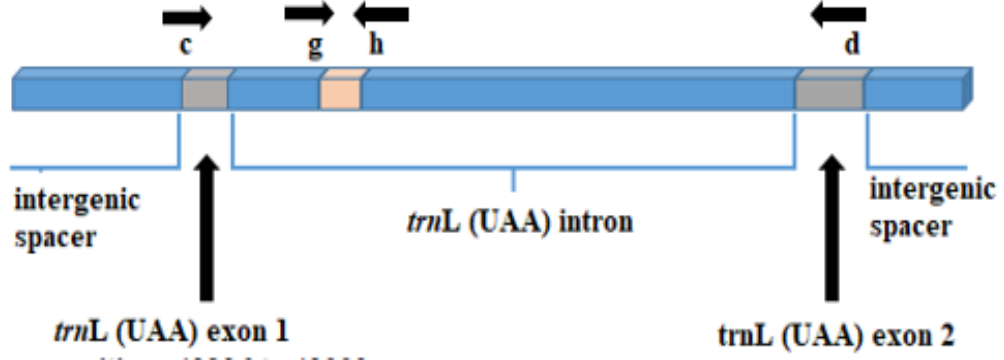


Şekil 1. 3. *trnL*-F bölgesi şematik gösterimi (Taberlet vd., 1991).

trnL-F bölgesinde genler arası boşluk *trnL* (UAA) 3' ekzonu ve *trnF* (GAA) geni arasında bulunmaktadır. Bu bölge kodlama yapmayan bir intron bölgesidir ve filogenetik sınıflandırmalarda popüler olarak kullanılmaktadır.

1.2.3. *trnL*-intron Bölgesi

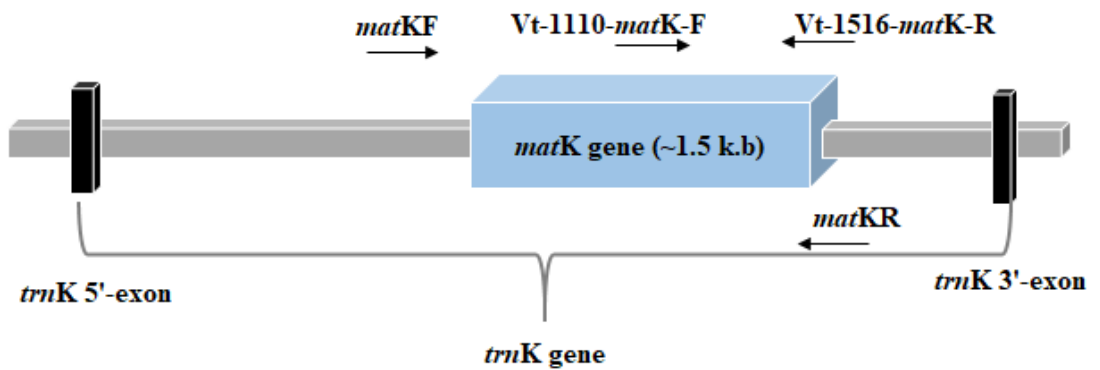
trnL-intron bölgesi siyanobakterilerin atası plastitlerden elde edilmiş ve bilinen en eski intron bölgesidir (Asakura ve Barkan 2007; Simon vd., 2003; Xu vd., 1990). *trnL*-intron bölgesi art arda gelmiş tRNA bölgeleri (*trnL*^{UAA} 5' ekzon ile *trnL*^{UAA} 3' ekzon) arasında bulunur. Bu bölgenin şematik gösterimi Şekil 1.4'de verilmiştir. *trnL*-intron bölgesi familya ve familya altı seviyeleri belirlemede kullanılmaktadır (Mes, 2000). Genellikle, filogenetik çalışmalarda yapısal mutasyonlardan daha sık kullanılmaktadır. Bununla birlikte, kloroplast DNA'sının en değişken kodlama bölgesi değildir ancak bazı avantajları vardır (Koroleva vd., 2005). *trnL*-intron bölgesi için evrensel primerler yaklaşık 15 yıl önce tasarlanmış ve daha sonra kullanımı yaygınlaşmıştır (Gielly ve Taberlet, 1996). *trnL*-intron bölgesinin evrimi ise çok geniş ölçüde araştırılmış ve analiz edilmiştir. Sonuç olarak, çeşitli *trnL*-intron sekanslarının hizalanması, primer tasarlanmasına ve aradaki değişken bölgenin amplifiye edilmesine izin verebilir (Palmer, 1991; Quandt vd., 2004; Quandt ve Stech, 2005; Shinozaki vd., 1986).



Şekil 1. 4. *trnL*-intron bölgesi şematik gösterimi (c,d,g ve h primerlerinin kloroplast *trnL* (UAA) geni üzerindeki konumu) (Taberlet vd., 2007).

1.2.4. *matK* Gen Bölgesi

matK gen bölgesi kloroplast gen bölgelerine göre en az korunan bölgelerden birisidir. Bu nedenle bitki araştırmalarında filogenetik sorunları ele alan çalışmalarda etkili bir şekilde kullanılır (Fuse ve Tamura, 2000; Ito vd., 1999). *matK* geninde diğer genlere kıyasla bazı avantajlar bulunmaktadır. İlk olarak *matK* geni yaygın olarak kullanılan *rbcL* ve *atpB* plastit gen bölgelerine göre üç kat daha hızlıdır. Bu gen, kodon pozisyonları ve düşük dönüşüm oranları ile mutasyonel olarak korunan bir bölgedir. Araştırmalara göre *matK* geni boyunca nükleik asit üzerindeki varyasyonlar ve amino asit seviyeleri gen boyunca dağılmış ve *matK* geninin Şekil 1.5’de verildiği üzere 5’ bölgesi ile 3’ bölgesi daha fazla varyasyon içerdiği birçok monokotil ve dikotilde görülmüştür. Bu benzersiz özelliklerden dolayı *matK* gen dizileri filogenetik çözümlenelerde ve tür düzeylerinde ayrımlarda kullanılmaktadır (Steele ve Vigalys, 1994; Brochmann vd., 1998; Koch vd., 2001 ve Tamura vd., 2004).



Şekil 1. 5. *matK* bölgesi şematik gösterimi (Phoolcharoen ve Sukrong, 2012).

1.3. Filogenetik Ağaç Metotları



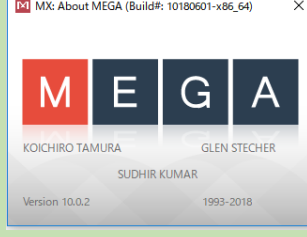

Tüm canlıların yapı ve evrimleri arasında ilişkiler bulunmaktadır. Bu ilişkilerin ata-soy şeklinde gruplandırılarak sınıflandırılmasına “filogenetik” denmektedir. Canlıların barındırdığı moleküler mekanizmalar, bir atadan evrimleşerek türlerin birbirleri ile ilişkilendirildiğini göstermektedir (Singh, 2015). Moleküler dizilerden filogenetik ağaç oluşturma fikri ilk olarak Emile Zuckerkandl ve Linus Pauling tarafından ortaya atılmış ve günümüzde biyoinformatik çalışmaların en önemli araçlarından biri haline gelmiştir (Zuckerkandl ve Pauling, 1962). Filogenetik sınıflandırmanın önemli isimlerinden Alman biyolog Emil Hans Willi Hennig, sınıflandırmanın; türlerin morfolojik, genetik, fizyolojik ve çevresel etmenler önceliğinde gerçekleştiğini açıklamıştır (Onursal ve Uğur, 1997). Filogenetik ilişkilerin bir şema üzerinde gösterimine ise “filogenetik ağaç” denmektedir. Canlıların evrimsel bağlantılarını gösteren bu şemalara “yaşam ağacı” ya da “evrim ağacı” da denmektedir (Woese vd., 1985). Filogenetik ağaçlar sadece soyları hesaplayan bir akademik amaçtan daha fazlasıdır. Oldukça pratik sağlayan filogenetik ağaçlar model organizmaları seçmek, hastalıkları takip etmek, yeni vektörler bulmak, virüslere karşı savunma mekanizması bulmak, türler için çeşitliliğin en üst düzeye çıkarmak ya da atalarını korumak ve bunların izini sürmek gibi birçok sorun filogenetik ağaçlar sayesinde kolayca çözümlenebilmektedir (Hedsen, 2002; Hey ve Machado; Layer ve Garman, 2001; Reis vd., 2009; Steel, 2005; Stuyver vd., 2000; Van ve Kayser, 2009). Bir filogenetik ağaçta bulunan dallar, türlerin atasal popülasyonlarının zamanla gerçekleşen farklılıklarını temsil etmektedir. Düğüm noktaları ise her bir taksonun iki ve üstü popülasyona bağlandığı ve oradan ayrıldığı noktaları temsil etmektedir. Dalların uçlarında soyu tükenmiş veya günümüzde yaşayan türler ifade edilmektedir. Filogenetik ağaçlar kendi içinde köklü ve köksüz ağaç olmak üzere iki sınıfta incelenmektedir. Köklü ağaçlar, inceleme sürecindeki soy geçmişinin nereden geldiğini göstermek için ayrılma olaylarının da netleşmesini sağlarlar (Freeman ve Herron, 1999). Köksüz ağaçlar ise, sadece türler arasındaki ilişkileri belirlerler. Ancak düğüm ve dalların tarihi sıralamasını açıklamazlar (Başbüyük vd., 2000).

Filogenetik ağaç oluştururken kullanılan bazı yöntemler bulunmaktadır. Bunlardan birincisi karakter temelli yöntemler olup bunlar; Maximum parsimony (MP), Maximum likelihood (ML) ve Mr. Bayes metodudur. Bu metodlar üzerinde araştırmalar yapılan taksonların arasında değişiklik gösteren kalıtsal ve birbirinden bağımsız olan her özellik ya da karakterlerin birbiriyle olan akrabalıklarını gösterme üzerine kuruludur. İkinci yöntem ise

mesafe temelli yöntemler olup dört tanedir bunlar: Aritmetik ortalama ile ağırlıksız çift grup metodu (UPGMA), Neighbor Joining, Minimum Evolution ve Fitch Margoliash metodudur. Mesafe temelli yöntemler; dizilerin sekanslanmasından sonra elde edilen evrensel mesafeler ile yeni bir veri oluşturularak bu verilerin mesafe skorları sonucuna göre de tüm taksonlar için bütün bir filogenetik ağaç kurma prensibine dayanır (Felsenstein, 1987). Tercih edilen ağaçların dallarındaki mesafeler arası oran en aza indirgenmiş olan ağaçlardır (Mount, 2001). Filogenetik ağaç oluşturulduğunda istatistik olarak güvenliğini analiz etmek lazımdır. Bu analizler için bilgisayar tabanlı yazılım ve programlar bulunmakta ve en çok tercih edilen analiz şekli ise “Bootstrapping” dir. Bootstrap yöntemi, mevcut filogenetik ağacın dalları üzerindeki parsimoni durumlarını baz alarak istatistiksel olarak en güvenilir olan dalları belirlemede iyi bir araçtır (Felsenstein, 1985). Bootstrap analizlerinde yüzdelik olarak değerler bulunmaktadır. Bu değerler filogenetik bağın gücünü temsil etmektedir. %85 ve üzeri değerler çok güçlü, %70-85 güçlü, %50-70 zayıf ve %50’den küçük değerler çok zayıf filogenetik ilişki şeklinde değerlendirme skalası oluşturulmuştur. %50’nin altında skalaya sahip filogenetik ağaçların taksonları doğrudan ilişkilendirilemeyeceği kabul edilir (Kress, 2005).

1.3.1. Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Programlar

Çizelge 1. 2. Filogenetik ağaç oluşturmada kullanılan programlar

PAUP Programı	MR. BAYES Programı	MEGA Programı	PHYLIP Programı
			
PAUP programı maximum likelihood ve maximum parsimony programlarının da dahil olduğu birçok metodu barındıran ayrıntılı programdır (Swofford, 2001).	MRBAYES programı Bayes metodu mantığı ile çalışmaktadır. Programdaki amaç bütün filogenetik ihtimallerin oranlarını ve dağılımlarını hesaplamaktır (Phylip, 2011).	MEGA programı dizi hizalamadan filogenetik ağaç oluşturmaya kadar fonksiyonları içeren bir programdır ve popüler olarak kullanılmaktadır (Tamura vd., 2013).	PHYLIP programı soy ağaçlarını oluşturulan ve indirilip kullanılabilen kolay ve eşzamanlı yan bir programdır (Phylip, 2011).

Filogenetik çalışmalarda yada filogenetik araştırmalar için kodlama yapan bilgisayar programcı kişiler genelde programların ileri düzeydeki sürümlerini destekleyen bilgisayarlar kullanmaktadırlar. Bu programların kullanım amaçları Çizelge 1.2’de verilmiştir. Bu programlardan en popüler ve yaygın kullanıma sahip olanlar PAUP, PHYLIP, MRBAYES programlarıdır. Fakat bu programların yanında eş zamanlı olarak kullanılması gereken başka programların da bulunması gerekmektedir. Bu ek programdan en yaygın kullanım Treeview programına aittir (Treeview, 2011).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Geçmiş yıllarda *Lisaea* türüne ait yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birinde Danış, (2016), *Lisaea strigosa* türünün uçucu yağ bileşimleri ve bazı morfolojik değerleri ölçülmüştür. Veisi ve Moeini, (2015), yapmış olduğu çalışmada sulanan arpa tarlalarında yetişen yabancı otların GPS yöntemi ile sıklığını belirlemiştir. Sulanan arpa tarlalarında 53 yabancı ot tespit edilmiş ve *Lisaea heterocarpa* türünün Kermanshah ilindeki arpa tarlalarında yabancı ot olarak bulunduğu açıklanmıştır. Lee ve Downie (2000), yapmış olduğu çalışmada *Caucalidae* familyasına ait türlerin *rps16* sekansına dayalı filogenetik analizi yapılmış ve *Lisaea* cinsinin de içinde bulunduğu bu çalışmada *Lisaea heterocarpa*, *Lisaea strigosa* ve *Lisaea papyracea* türleri *Torilidinae* basamağında yer almıştır. Kaya ve Karataş (2019), yapmış oldukları çalışmada 2000’li yıllardan bu yana Şanlıurfa ili içinde fitososyolojik ve floristik araştırmaların çoğalmasıyla daha önce Şanlıurfa bitki florasında kayıt altına alınmamış birçok tür gözlemlenmiştir. Floristik araştırmaların yanı sıra, fitososyolojik araştırmalar bitki topluluğu tabloları da, listelenen bitkilerin yerini almıştır. Yapılan bu çalışmada son 15 senede yapılmış tüm fitososyolojik ve floristik araştırmaların tamamı incelenip Şanlıurfa florasına ait bitkilerin endemizm, hayat şartları ve fitocoğrafik konumları açısından incelemeleri yapılmıştır. Bu çalışma sayesinde 460 cins ve 88 familyayı barındıran 1668 tür tespit edilmiştir. Çalışma lokalinde 107 adet endemik tür belirlenmiştir. Taksonların fitocoğrafik konumlarına göre dağılımları: İran-Turan kökenliler %33, Akdeniz kökenli %9, Doğu Akdeniz kökenli %8, Avrupa-Sibirya kökenli %3, Batı-Akdeniz kökenli %0,2, Sahra-Sind kökenli %0,2, Sahra-Arap kökenli %0,05 ve bilinmeyenlerin oranı ise %47 olarak kaydedilmiştir. Bu değerlere göre alandaki en büyük beş familya oran sırasına göre; Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Brassicaceae ve Lamiaceae olmuştur. Bu araştırmada üç *Lisaea* türünün de bulunduğu belirtilmiştir. Sancar, (2021), yaptığı çalışmada bitkilerdeki moleküler seviyede yapılan araştırmalar, incelenmiş taksonlardan maksimum verimli DNA eldesi gerektirmekte olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle, araştırılacak bitki örneklerinin yüksek yoğunlukta ve saf DNA bulundurmasının son derece önemli olduğu dile getirilmiştir. Bitkilerdeki genomik DNA izolasyonu gerçekleştirmek üzere farklı birçok protokol olduğu ve bu çalışmada tıbbi ve aromatik bitki familyalarına (Asteraceae, Apiaceae ve Lamiaceae) ait bazı taksonların bu amaçla kullanıldığı belirtilmiştir. Taksonlar tek tek herbaryum tekniği ile kurutulmuş buna ek olarak taze yaprak örneklerinden de yararlanılıp hangisinin daha verimli olduğu araştırılmıştır. Genel olarak incelendiğinde her iki yöntemde yüksek oran ve saflıkta DNA

eldesi sağlanırken, gDNA’larda RNA, polisakkaritler, proteinler, uçucu yağlar, fenoller ve diğer kirli kısım miktarı en az seviyede tutulmaya çalışılmıştır. İncelenen DNA’ların saflık ve konsantrasyonları nanodrop spektrofotometrede ölçülürken, yoğunluk miktarları agaroz jel elektroforezinde gözlemlenmiştir. Bunlara ek elde edilmiş DNA’ların PZR çalışmalarına uyumu da farklı primerler test edilerek denenmiştir. Elde edilen DNA’ların miktarları ve kalite oranı türler arasında belirli farklılık göstermesine rağmen en verimli ve kaliteli izolasyon her zaman taze bitki dokusu kullanılarak gerçekleştirilen izolasyondan sağlanmıştır. Buna ek bir bilgi olarak sadece CTAB çözeltisi kullanılarak yapılan ekstraksiyon yönteminde en fazla saf ve yoğun DNA eldeleri sağlanmıştır. Yapılan bu moleküler çalışmanın materyal ve yöntem kısmında ise *Lisaea strigosa* türünün Elazığ-Hankendi ilçesi civarı yol kenarları, 994 m’de bulunduğu bildirilmiştir. Sırrı, (2019), yaptığı çalışmada buğday yetiştirilen alanlardaki sorun oluşturan yabancı otların yoğunluğu ve yayılış durumlarını belirtmeyi amaçlamıştır. Bu doğrultuda; Türkiye’nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde bulunan Siirt ilindeki buğday tarlalarının 2017-2018 vejetasyon sürecinde araştırmaları yapılmıştır. Buğday tarlalarında asıl sorun oluşturan yabancı otlardan Apiaceae familyasına ait 8 tür belirtilmiştir. *Lisaea strigosa* türünün Siirt ilinde buğday tarlalarında rastlanma sıklığı %41 ve yoğunluğu 0,98 olarak kaydedilmiştir. Bazı yabancı otların çok fazla yaygınlık göstermese bile bölgesel yoğunluğu ile ulaşabildikleri verimli topraklarda kayıplara neden olabildikleri belirtilmiştir. Özmen vd., (2010), yaptıkları çalışmada *Tordylium ketenoylii*, *Tordylium macropetalum* ve *Tordylium pustulosum* türlerinin palinojik (Botanik’in polen ve sporları araştıran alt bilim dalıdır) bakımdan diagnostik özelliklerinin teşhis edilmesi için türlerin polen yapıları polen preparatları ile ölçülüp değerlendirilmiştir. Altunbaş ve Türel, (2009), yaptıkları çalışmada *Petroselinum crispum* türünün tohumuna ait uçucu yağ bileşiminin gaz kromatografik tekniği ile tanısı yapılmış ve antienflamatuvar etkisi yönünden incelenmesi yapılmıştır. Antienflamatuvar etki deneyinde, *Petroselinum crispum* türünün tohumları 0,060 ml/kg dozunda, 0,015 ml/kg ve 0,030 ml/kg dozlarında ise indometazine göre daha az etki göstermiştir. *Petroselinum crispum* uçucu yağının medyan efektif dozu ise yaklaşık 0,029 ml/kg bulunmuştur. Kaval ve Tonçer, (2020) çalışmalarında Apiaceae familyasına ait örneklerin tekrardan düzenlenmesi, internet üzerinde bir veri tabanı hazırlanması, henüz belirlenmemiş örneklerin teşhisinin yenilenmiş literatür üzerinden taranması ve sistematik çalışmalara eşleşmeyen taraflarıyla endemik olan türlerin tehlike durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır Özçelik ve Bebekli (2020), çalışmalarında Türkiye’de doğal olarak bulunan Apiaceae türlerinden 4 *Heptaptera* türünün (*Heptaptera cilicica*, *Heptaptera anisoptera*, *Heptaptera anatolica* ve *Heptaptera*

triquetra) meyvelerinin anatomik ve morfolojik yapıları ilk kez ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda dört türün meyvelerinin anatomik ve morfolojik özellikleri aydınlatılmıştır ve bu çalışma fotoğraflarla da desteklenmiştir. Bunlara ek olarak taramalı elektron mikroskopu yoluyla dört türün olgunlaşmış meyve şekillerine göre mikromorfolojik durumlar taranmış, karşılaştırılmış ve resimleri eklenmiştir. Çalışmada meyvelerin anatomik ve morfolojik özelliklerinin *Heptaptera*'ya ait türlerin taksonomik sınıflandırılmasına yardımcı olabilecek dikkat çeken belirgin farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Mısır vd., (2017), çalışmalarında Apiaceae familyasına ait *Bupleurum* L. cinsinin Türkiye'de endemiği iki türü bulunduğu ve bunların *Bupleurum heldreichii* Boiss. & Bal. ve *Bupleurum lophocarpum* Boiss. & Bal olduğu belirtilmiş ve anatomik özellikleri incelenmiştir. Anatomik çalışmalarında incelenen taksonlar vejetatif organ kısmından enine kesilip incelenmiştir. Buna ek olarak yaprak yüzeylerinden belirli kesitler alınıp stoma yapıları incelenip, stoma indeksleri ölçülmüştür. Bu türlerden **B. heldreichii**, köklerinde peridermis, gövdesinde sığı öz bölgesi, ekvifasiyal mezofil ve yapraklarda düz olmayan epidermis hücre çeperleri ile tanımlanmıştır. Buna ek olarak *B. Lophocarpum* türünün kök kısmında epidermis, gövdelerinde büyük öz kısmı, ekvifasiyal mezofil ve yaprak yüzeylerinde epidermis düz hücre çeperli olduğu belirtilmiştir. Sonuç kısmında *Bupleurum heldreichii* ve *Bupleurum lophocarpum* türlerinin anatomik ölçümleri ve değerler tablolar ile verilmiştir. Taksonların arasında farklılıklar ve benzerlikler değerlendirilmiştir. Başer ve Pehlivan, (2015), çalışmalarında Apiaceae familyasından olan *Prangos*'a ait üç farklı takson; İç Anadolu, Güney Doğu Anadolu ve iç Anadolu Bögesinde dağılmıştır. Bu türler 1000-2300 m arasında yüksekliklerde bulunmaktadır. Çalışmada kullanılan *Prangos* cinsine ait olan *Prangos pabularia* Lindl. (Hakkari, Mardin, Bitlis, Muş, Elazığ), *Prangos platychloena* Boiss. ex Tchihat. (Erzincan, Van, Erzurum), *Prangos meliocarpoides* Boiss. var. *meliocarpoides* (Kayseri, Konya) alınan polenlerden Wodehouse 1935 yöntemine göre preparatlar hazırlanmıştır. Aynı türden olanlar farklı bölgelerden olanlar ile polenleri arasında farklılıklar saptanmıştır. Bu türlerin taşıdığı polenler ışık mikroskopu kullanılarak mikrofotoğrafları kaydedilmiştir. Ulusoy, (2017), çalışmasında Apiaceae familyasından *Caropodium* cinsinin türlerinin kök, yaprak kını, gövde ve meyvelerinin anatomik özellikleri detaylı olarak araştırılmış ve bu ölçümlerin sistematik olarak önemi belirtilmiştir. Anatomik özellikleri taksona ait 22 çeşit lokalitelerden toplanmış ve incelenmiştir. İncelenen taksonlar kök, yaprak kını, gövde ve yaprak anatomik kalitatif özelliklerinin benzerlik gösterdikleri, fakat meyve anatomisinin diagnostik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Kantitatif karakterler ile oluşturulan analiz sonuçları ise, ölçülen karakterlerin

%80'inin türler arasında belirli farklılık sergilediği gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak önemli diğer bir sonuç ise, *Caropodium* cinsinin taksonlarının kök bölgesindeki kesitlerinde sklerankima hücrelerinin (taş hücrelerinin) bulunması olduğu bildirilmiştir. Peridermlerde bu hücelere ait dizilem ve sıklık türler bazında farklılık göstermekle birlikte, şu ana kadar araştırılmış Apiaceae familyasından herhangi bir tür ile benzer bir kritere rastlanmamıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Materyalleri

Tezin çalışma materyalini oluşturan *Lisaea* cinsine ait toplam üç tür bulunmaktadır. Bu üç türe ait 6 farklı popülasyon örneği ile çalışılmıştır. Çalışan tür isimleri *Lisaea heterocarpa*, *Lisaea strigosa* ve *Lisaea papyraceae* olmak üzere her türden iki farklı lokasyona ait örnek kullanılmıştır. Bitki materyalleri Munzur Üniversitesinden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY tarafından toplanıp teşhis edilmiştir. Teşhis edilen örneklerin kontrolü Flora of Turkey den yapılmıştır. Toplanan genç ve taze bitkiler herbaryum tekniği ile isimlendirilip kilitli poşetlerde muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiş ve dondurularak muhafazası sağlanmıştır. Bitkilerin toplandığı iller ve toplayıcı bilgileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Toplanan bitki örneklerine dair bilgiler

Örnek Numaraları	Çalışılan Tür İsimleri	Toplanan Lokaliteler	Toplayan Kişi
1 Numaralı Örnek	<i>Lisaea papyraceae</i>	Konya	Mehmet Yavuz PAKSOY
2 Numaralı Örnek	<i>Lisaea papyraceae</i>	Kayseri	Mehmet Yavuz PAKSOY
3 Numaralı Örnek	<i>Lisaea strigosa</i>	Muş	Mehmet Yavuz PAKSOY
4 Numaralı Örnek	<i>Lisaea strigosa</i>	Siirt	Mehmet Yavuz PAKSOY
5 Numaralı Örnek	<i>Lisaea heterocarpa</i>	Şanlıurfa	Mehmet Yavuz PAKSOY
6 Numaralı Örnek	<i>Lisaea heterocarpa</i>	Tunceli	Mehmet Yavuz PAKSOY

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Yöntem ve Kimyasallar

3.1.2.1. Genomik DNA İzolasyonu

Muhafaza edilen bitki örneklerinin izolasyonu GeneMark DNA (katolog numarası DP022) izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kitte kullanılan kimyasallar ve kullanım miktarları Çizelge 3.2’de detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 3. 2. DNA izolasyon kiti kullanım bilgileri

	Kitte Bulunan Kimyasal İsimleri ve Kullanım Sırası	Kullanılan Miktarlar
1. Adım	Extraction Solution A	360 µl
2. Adım	Extraction Solution B	40 µl
3. Adım	RNase A Solution	4 µl
4. Adım	Precipitation Solution	130 µl
5. Adım	Binding Solution-Etanol	360 µl
6. Adım	Wash Solution	500 µl
7. Adım	Elution SolutFion	200 µl

3.1.2.2. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi

PZR reaksiyonunu gerçekleştirilirken *trnL-F*, *trnL-intron* ve *matK* primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin stokları hazırlanması için her bir primer ependorfları yaklaşık 30 saniye boyunca 7000rpm dönme hızında santrifüj yapılarak primerlerin çökmesi sağlanmıştır. Bu işlemden sonra primerler sulandırılıp 3-5 saniye kadar vorteks uygulanıp hazır hale

getirilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlere ait baz dizimleri Çizelge 3.3’de verilmiştir. Çalışmada 25 µl PZR tüpleri hazırlanmıştır. Bu tüplerin içine 2 µl genomik DNA, 5 µl master mix, 1 µl F primer, 1 µl R primer ve 16 µl dH₂O eklenmiştir.

Çizelge 3. 3. Kullanılan primerlere ait baz dizileri

Kullanılan Primer İsimleri	Primerlere Ait 5’-3’ Baz Dizilimi	Primer Dizilerinin Kaynağı
<i>trnLe</i> (F)	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	(Taberlet vd., 1991).
<i>trnFf</i> (R)	ATTTGAACTGGTGACACGAG	(Taberlet vd., 1991).
<i>trnc</i> (F)	CGAAATCGGTAGACGCTACG	(Taberlet vd., 1991).
<i>trnd</i> (R)	GGGGATAGAGGGACTTGAAC	(Taberlet vd., 1991).
<i>matK</i> (472)	TCTAGCACACGAAAGTCGAAG T	(Cuenoud vd., 2002).
<i>matK</i> (1248)	CGATCTATTCATTCAATATTC	(Cuenoud vd., 2002).

3.1.2.2.1. Uygulanan PZR Protokolü

Uygulanan PZR protokolleri *trnL-F* için Çizelge 3.4, *trnL*-intron için Çizelge 3.5 ve *matK* için Çizelge 3.5’deki gibidir.

Çizelge 3. 4. *trnL-F* primeri için uygulanan PZR protokolü

Basamak	Sıcaklık ve Zaman	Toplam Devir
Ön Hazırlık	94°C/5dk	1 Devir
1. Basamak	94 °C/45sn	35 Devir
2. Basamak	50 °C/45sn	35 Devir
3. Basamak	72 °C/1dk	35 Devir
4. Basamak	72 °C/10dk	35 Devir
5. Basamak	4 °C/20dk	20dk

Çizelge 3. 5. *trnL*-intron primeri için uygulanan PZR protokolü

Basamak	Sıcaklık ve Zaman	Toplam Devir
Ön Hazırlık	94°C/5dk	1 Devir
1. Basamak	94 °C/45sn	35 Devir
2. Basamak	50 °C/45sn	35 Devir
3. Basamak	72 °C/1dk	35 Devir
4. Basamak	72 °C/10dk	35 Devir
5. Basamak	4 °C/20dk	20dk

Çizelge 3. 6. *matK* Primeri İçin Uygulanan PZR Protokolü

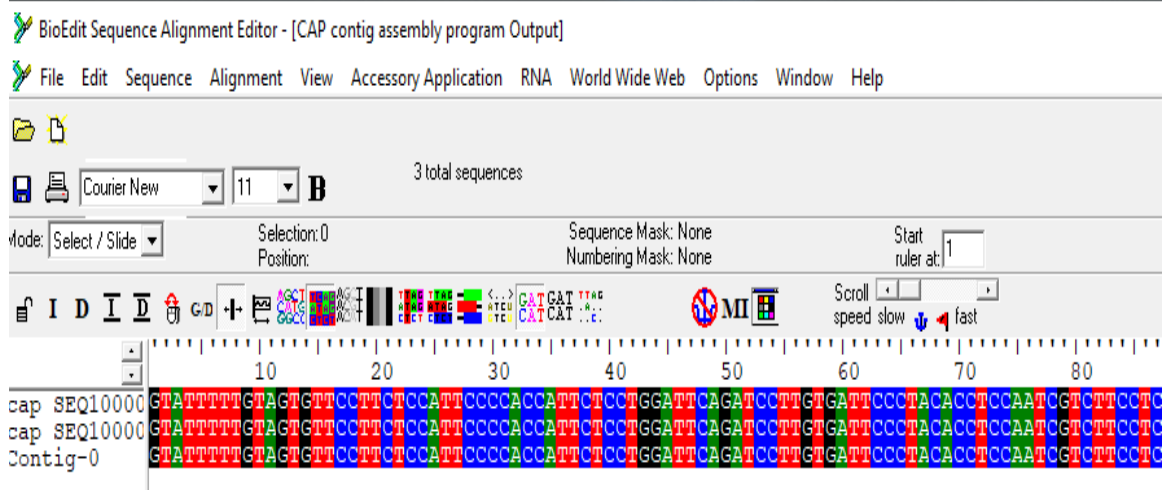
Basamak	Sıcaklık ve Zaman	Toplam Devir
Ön Hazırlık	95°C/1dk	1 Devir
1. Basamak	95 °C/30sn	35 Devir
2. Basamak	51 °C/30sn	35 Devir
3. Basamak	68 °C/1dk	35 Devir
4. Basamak	68 °C/8dk	35 Devir
5. Basamak	4 °C/20dk	20dk

3.1.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

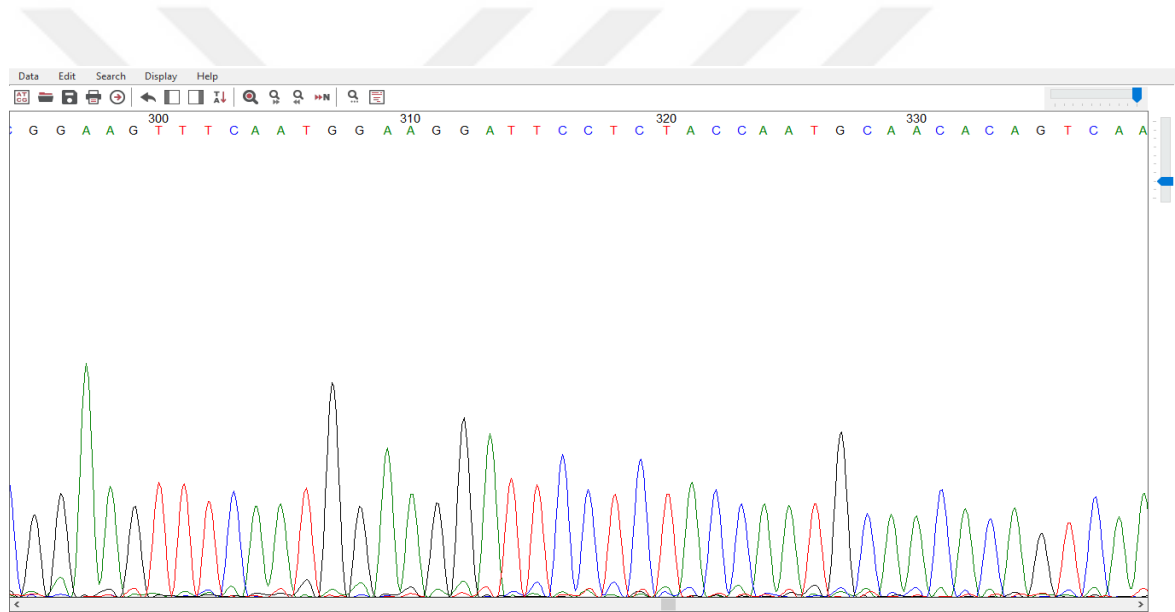
PZR işlemleri tamamlandıktan sonra eşleşme sağlayıp bant oluşturan fragmentleri görüntülemek için agaroz jel elektroforezi işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için 0,75 gr agaroz ile 75 ml 1 X TBE (Tris Borik EDTA) tamponu erlen içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında kaynamaya başladığı ilk ana kadar ısıtılmıştır. Kaynayan karışım homojen hale gelmiştir. Birkaç dakika 60 °C'ye kadar karışımın soğuması beklenmiş ve içerisine 1,5 µl EtBr (Etidyum Bromür) ilavesi yapılmıştır. Kullanılan elektroforez tankına jel dökülmeden önce 7 kuyucuk oluşturan tarak takılmıştır. Hazırlanan agaroz jel bu tanka dökülüp 30-45 dakika polimerleşme evresi beklenmiştir. Sonrasında taraklar çıkartılıp içinde 1 X TBE bulunan jel tankın içerisine yerleştirilmiştir. PZR ürünlerinin her birinden 5µl alınıp 1 µl loading dye ile karıştırılmıştır. Karışımlar kuyucuklara mikropipet ile yüklenmiştir. Elektroforez sonucu oluşan bantların baz büyüklüğünü belirlemek için ilk kuyucuğa 4 µl belirteç markırı yüklenmiştir. Her elektroforez işlemi yaklaşık 45 dakika boyunca 100 volt elektrik akımında yürütülmüştür.

3.1.2.4. PZR Sonuçlarının İşlenmesi ve Değerlendirilmesi

Üç farklı primer ile çoğaltılan bölgelerin DNA baz dizilimini öğrenmek için PZR numuneleri TRİOGEN (İstanbul) firmasına gönderilmiştir. PZR ürünlerinin saflaştırılması için otomatik DNA Dizileme cihazı kullanılmıştır. Analiz sonuçlarının doğru ve güvenilir olması için görsel olarak dizilerin gözlemlenmesi DNA dizilerinin teker teker kontrol edilmesi gereklidir. Her bir diziye ait forward ve reverse primer dizileri, moleküler sistematik çalışmalarında sıklıkla kullanılan Bioedit 7.2.3 (Hall, 1999) ve MEGA 6.0 (Tamura vd., 2013) adlı profesyonel bilgisayar programları ile kontrol edilmiş ve her baza ait pik kromatogramına göre bazlar manuel olarak düzenlenip yeni bir contig dizisi oluşturulmuştur. Bu programlara ait ekran görüntüleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'deki gibidir.



Şekil 3. 1. BioEdit Bilgisayar Programı



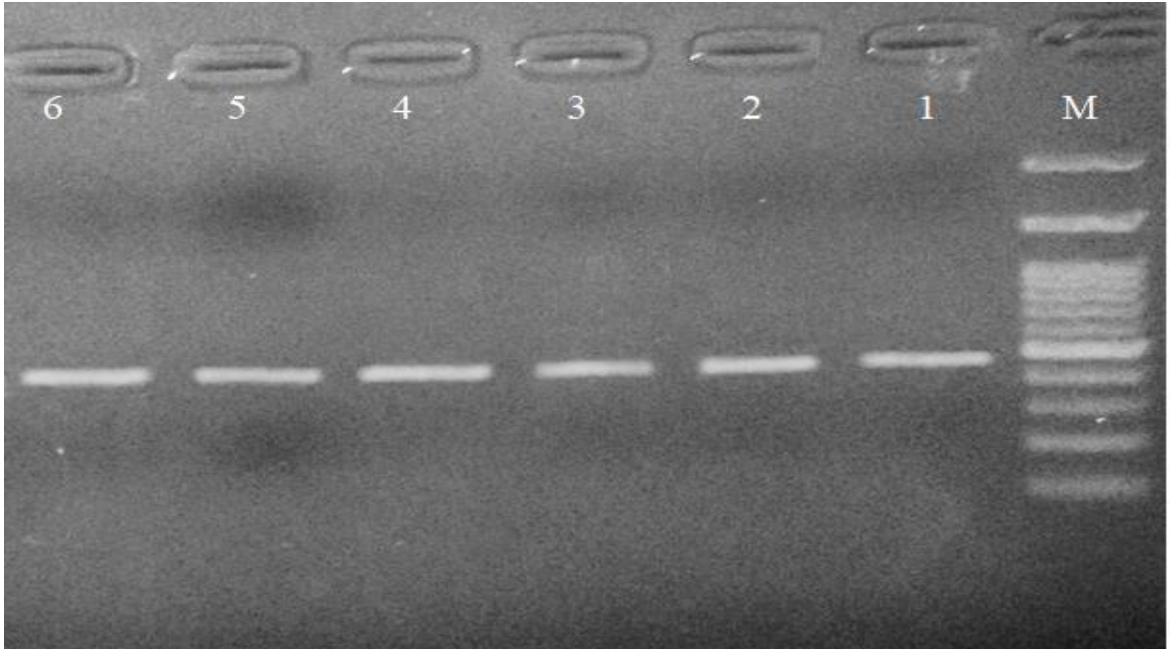
Şekil 3. 2. MEGA 6.0 Bilgisayar Programı

Dizileri elde edilmiş olan *Lisaea* popülasyonlarının filogenetik ilişkilerini belirlemek için, genetik olarak popülasyonların bağlantısı ve diğer parametrelerin mutlak farklılıklarını belli bir tablo, grafik ve şema üzerinde görmemize imkan veren MEGA 6.0 programı kullanılmıştır. Filogenetik ilişkileri belirlerken mesafe temelli yöntemlerden maksimum likelihood metodu seçilmiştir. Bunlara ek olarak *Lisaea* türleri arasındaki nükleotid kompozisyonu oranları MEGA 6.0 programı kullanılarak elde edilmiştir.

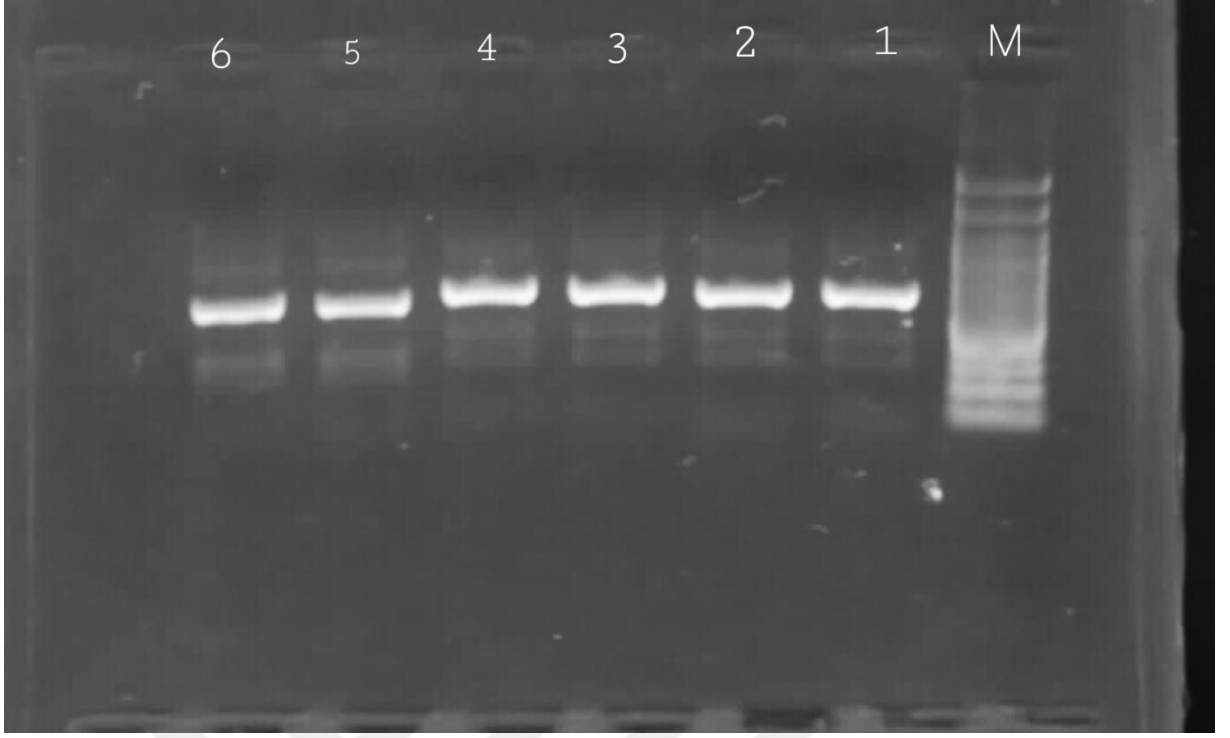
4. BULGULAR

4.1. PZR Sonuçları

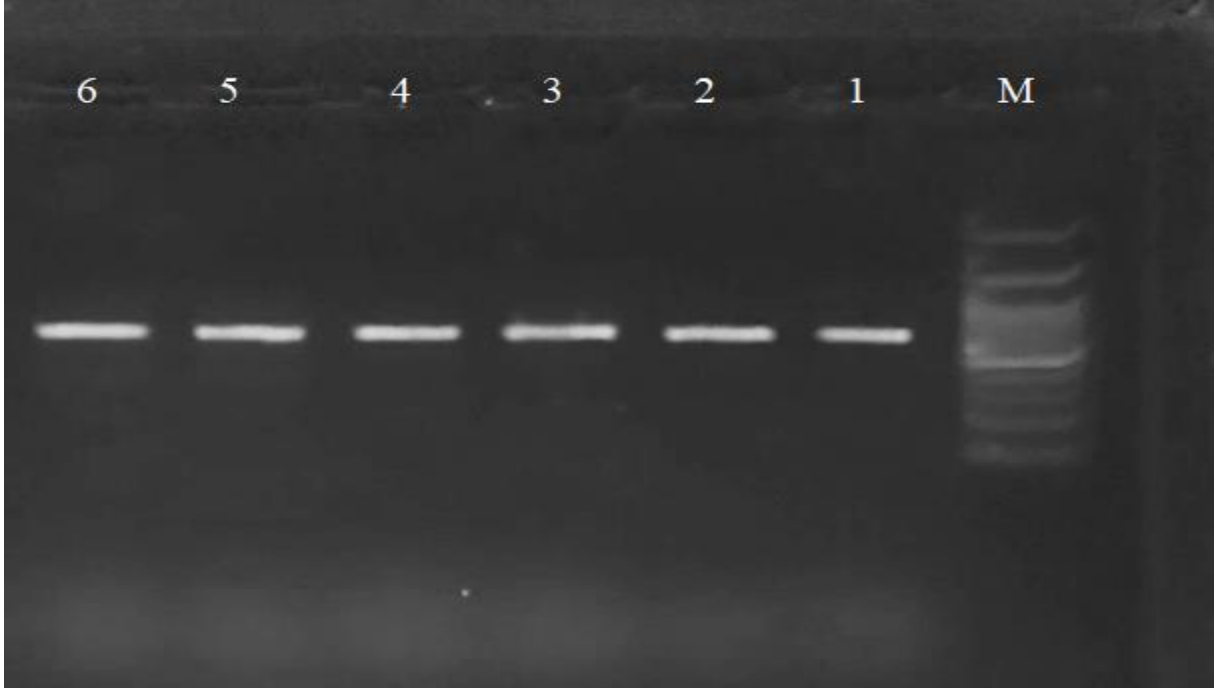
Lisaea türlerinin genomik DNA izolasyonu GeneMark izolasyon kiti ile yapılmıştır. Ardından tüm izolasyon serisine *trnL*-F, *trnL*-intron ve *matK* primerleri ile prosedüre uygun PZR işlemi yapılmıştır. Bu işlem ile primerler kendine tanımlı baz dizilimlerini eşleyerek kopyalamıştır. Elde edilen PZR ürünleri elektroforez cihazında yürütüldükten sonra bant görüntüleri elde edilmiş ve ultraviyole görüntüleme cihazı ile görüntülenmesinden sonra fotoğrafları kayıt altına alınmıştır. Alınan görüntüler Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'da verilmiştir.



Şekil 4. 1 . *trnL*-F Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1:*Lisaea papyracea*, 2:*Lisaea papyracea*, 3:*Lisaea strigosa*, 4:*Lisaea strigosa*, 5:*Lisaea heterocarpa* ve 6:*Lisaea heterocarpa*)



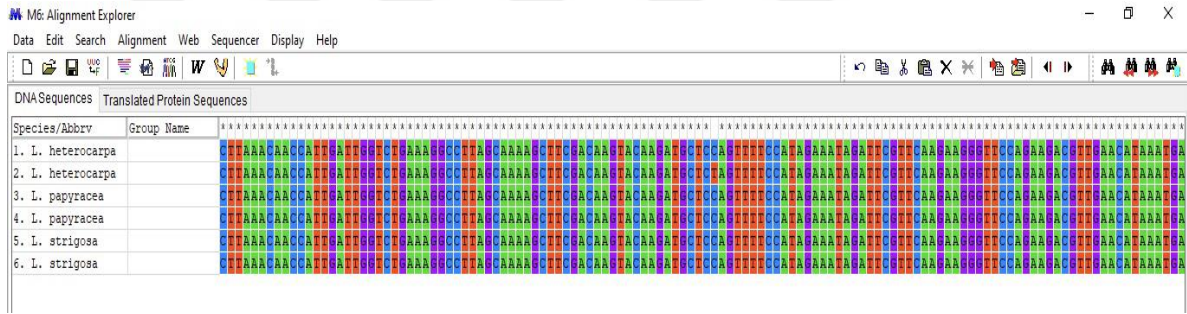
Şekil 4. 2. *trnL*-intron Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1:*Lisaea papyracea*, 2:*Lisaea papyracea*, 3:*Lisaea strigosa*, 4:*Lisaea strigosa*, 5:*Lisaea heterocarpa* ve 6:*Lisaea heterocarpa*)



Şekil 4. 3. *matK* Primerine Ait Gözlemlenen Bant Görüntüsü; (1:*Lisaea papyracea* Konya Popülasyonu, 2:*Lisaea papyracea*, 3:*Lisaea strigosa*, 4:*Lisaea strigosa*, 5:*Lisaea heterocarpa* ve 6:*Lisaea heterocarpa*)

4.2. DNA Sekansları ve Analiz Yöntemi

Türlerin DNA baz dizilimine ait bilgiler kromatogram dosyaları Bioedit 7.2.3 programı ile açılıp her bazın pik durumları gözlemlenmiştir. Her bazın sıra sayısı ve kromatogramdaki değeri tek tek incelenerek Bioedit 7.2.3 programında diziler hizalanıp manuel olarak baz farklılıkları düzenlenmiştir. Türlerin sekans dizileri, FASTA formatında MEGA 6.0 programına yüklenerek hizalama yapılmıştır. Programa ait renkli baz işaretleyici komutlarını uyguladığımızda hizalanan DNA dizileri arasındaki değişimler daha belirgin olup baz farklılıkları tespit edilmiştir. Tek tek işlenen sekans dizilerine ek olarak NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) veri tabanında her bir DNA dizisinin yüzde olarak doğruluk oranları BLAST yapılarak hesaplanmıştır. Sonrasında çalışılan bitki türlerine ait familyadaki diğer türlerin sekans dizileri bu veri tabanından alıp hepsi tekrardan hizalanarak karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırmaya ait görüntü Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4. 4. MEGA 6.0 Programında Hizalama

4.3. Filogenetik Analizlerin Yapılması

Moleküler filogenetik çalışmalar türlerin ya da organizmaların genetik dizilimlerinin analizleri sayesinde bilgi edinmek amacıyla yapılan çalışmalardır. Bu analizlerin sonucu çeşitli parametreler ile gözlemlenmektedir. Moleküler sistematik ve moleküler filojeni benzer terimlerdir. Moleküler sistematik elde edilen moleküler verilerin taksonomik ve biyocoğrafik araştırmalarını incelemektedir (Soltis vd., 1992; Soltis vd., 1998; Felsenstein, 2004). Bu çalışmada da NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) veri tabanından alınan diğer türlere ait FASTA dizileri MEGA 6.0 programında hizalanarak analiz edilmiştir. Diğer tüm türlere ait diziler çalışmadaki sekans dizileriyle kıyaslanıp nükleotid farklılıklarına göre çeşitli parametreleri hesaplanmıştır. Türler arasındaki genetik bağı belirleyen filogenetik

ağaçlar yine bu program kullanılarak yapılmıştır. Yapılan filogenetik ağaçlar karakter temelli metotlardan olan maximum likelihood (ML) yöntemi seçilerek oluşturulmuştur.

4.3.1. *Lisaea* Türlerine Ait Nükleotid Frekansları

Lisaea türlerine ait *trnL*-F, *trnL*-intron ve *matK* bölgelerinin baz oranları Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'deki gibi sonuçlanmıştır. Bu değerler MEGA 6.0 programında yapmış olduğumuz hizalamalar sayesinde hesaplanmıştır.

Çizelge 4. 1. *Lisaea* Türlerine Ait *trnL*-F Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

	T(U)	C	A	G	Toplam
<i>Lisaea heterocarpa</i> Tunceli	29,1	17,9	32,3	20,8	375
<i>Lisaea heterocarpa</i> Şanlıurfa	30,2	18,2	32,6	19	374
<i>Lisaea papyracea</i> Kayseri	29,7	17,8	32,1	20,4	377
<i>Lisaea papyracea</i> Konya	29,7	17,4	33,2	19,6	367
<i>Lisaea strigosa</i> Muş	29,2	17,8	32,6	20,4	377
<i>Lisaea strigosa</i> Siirt	29,6	17,8	32,6	19,9	371
Agv.	29,6	17,8	32,6	20	373,5

Çizelge 4. 2. *Lisaea* Türlerine Ait *trnL*-intron Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

	T(U)	C	A	G	Toplam
<i>Lisaea heterocarpa</i> Tunceli	38,8	18,3	27,0	15,9	529
<i>Lisaea heterocarpa</i> Şanlıurfa	37,8	19,0	27,3	15,9	447
<i>Lisaea papyracea</i> Kayseri	38,8	18,5	26,8	15,9	523
<i>Lisaea papyracea</i> Konya	39,2	18,2	26,6	15,9	533
<i>Lisaea strigosa</i> Muş	38,5	18,7	27,0	15,8	525
<i>Lisaea strigosa</i> Siirt	38,7	18,5	26,9	15,8	524
Agv.	38,7	18,5	26,9	15,9	513,5

Çizelge 4. 3. *Lisaea* Türlerine Ait *matK* Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

	T(U)	C	A	G	Toplam
<i>Lisaea heterocarpa</i> Tunceli	27,3	17,7	35,6	19,4	752
<i>Lisaea heterocarpa</i> Şanlıurfa	27,3	17,6	35,4	19,6	754
<i>Lisaea papyracea</i> Kayseri	27,2	17,9	35,6	19,4	744
<i>Lisaea papyracea</i> Konya	27,4	17,5	35,6	19,5	755
<i>Lisaea strigosa</i> Muş	27,4	17,7	35,5	19,4	733
<i>Lisaea strigosa</i> Siirt	27,3	17,8	35,4	19,5	735
Agv.	27,3	17,7	35,5	19,5	745

4.3.2. *Lisaea* Türlerine Ait *trnL*-F, *trnL*-intron ve *matK* Bölgelerinin Genetik Uzaklık Değerleri

Çizelge 4. 4. *trnL*-F Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Tunceli													
2. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Şanlıurfa	0.007												
3. <i>Lisaea papyracea</i> -Kayseri	0.003	0.003											
4. <i>Lisaea papyracea</i> - Konya	0.003	0.003	0.000										
5. <i>Lisaea strigosa</i> - Muş	0.003	0.003	0.000	0.000									
6. <i>Lisaea strigosa</i> - Siirt	0.003	0.003	0.000	0.000	0.000								
7. <i>Apium graveolens</i> (MT822132)	0.049	0.042	0.046	0.046	0.046	0.046							
8. <i>Sanicula europaea</i> (MH377906)	0.103	0.095	0.099	0.099	0.099	0.099	0.079						
9. <i>Daucus carota</i> (FJ490764)	0.045	0.038	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042	0.079					
10. <i>Carum carvi</i> (JQ041835)	0.064	0.057	0.061	0.061	0.061	0.061	0.050	0.095	0.049				
11. <i>Pimpinella saxifraga</i> (MH377898)	0.080	0.080	0.076	0.076	0.076	0.076	0.064	0.119	0.079	0.072			
12. <i>Anthriscus carefolium</i> (AF432022)	0.057	0.049	0.053	0.053	0.053	0.053	0.042	0.098	0.049	0.064	0.087		
13. <i>Angelica sylvestris</i> (AY379134)	0.046	0.038	0.042	0.042	0.042	0.042	0.024	0.075	0.031	0.031	0.046	0.045	

Lisaea türleri ve familyaya ait NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)’dan alınan diğer türlerin genetik uzaklık matrisleri MEGA 6.0 programı ile hesaplanmıştır. Birbirine en yakın türler arasındaki değer 0,000 iken birbirine en uzak türlerin değeri 0,119 ile *Pimpinella saxifraga* (MH377898) ile *Sanicula europaea* (MH377906) arasında hesaplanmıştır. *trnL*-F primerine ait tüm genetik uzaklık değerleri ise Çizelge 4.4’deki gibidir.

Çizelge 4. 5. *trnL*-intron Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Tunceli													
2. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Şanlıurfa	0.000												
3. <i>Lisaea papyracea</i> - Kayseri	0.000	0.000											
4. <i>Lisaea papyracea</i> - Konya	0.000	0.000	0.000										
5. <i>Lisaea strigosa</i> - Muş	0.000	0.000	0.000	0.000									
6. <i>Lisaea strigosa</i> - Siirt	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
7. <i>Sanicula europaea</i> (MH377889)	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046							
8. <i>Daucus carota</i> (KY697399)	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.036						
9. <i>Carum carvi</i> (JQ041835)	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.046	0.016					
10. <i>Pimpinella saxifraga</i> (MH377881)	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	0.052	0.022	0.026				
11. <i>Anthriscus carefolium</i> (KX667992)	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.046	0.016	0.026	0.032			
12. <i>Angelica sylvestris</i> (AY379236)	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.046	0.016	0.013	0.026	0.026		
13. <i>Apium graveolens</i> (MN167275)	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.052	0.022	0.022	0.032	0.032	0.026	

Lisaea türleri ve familyaya ait NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)’dan alınan diğer türlerin genetik uzaklık matrisleri MEGA 6.0 programı ile hesaplanmıştır. Birbirine en yakın türler arasındaki değer 0,000 olup en uzak türlerin değeri 0,052 ile *Apium graveolens* (MN167275) ile *Sanicula europaea* (MH37788) arasında hesaplanmıştır. *trnL*-intron primerine ait tüm genetik uzaklık değerleri ise Çizelge 4.5’deki gibidir.

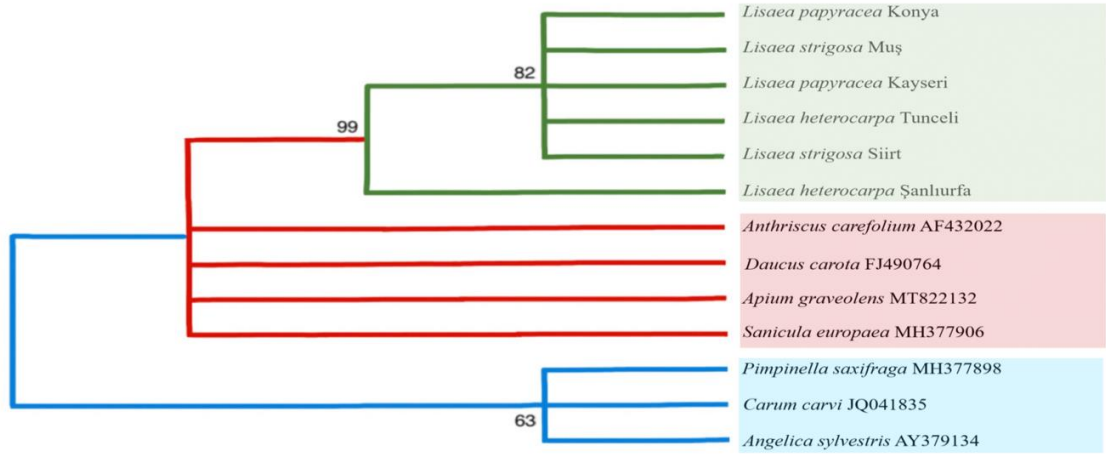
Çizelge 4. 6. matK Bölgesi Analizine Dayalı Genetik Uzaklık Matrisleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Tunceli													
2. <i>Lisaea heterocarpa</i> - Şanlıurfa	0.004												
3. <i>Lisaea papyracea</i> - Kayseri	0.000	0.004											
4. <i>Lisaea papyracea</i> - Konya	0.004	0.006	0.004										
5. <i>Lisaea strigosa</i> - Muş	0.000	0.004	0.000	0.004									
6. <i>Lisaea strigosa</i> - Siirt	0.000	0.004	0.000	0.004	0.000								
7. <i>Apium graveolens</i> (MT239316)	0.061	0.059	0.061	0.062	0.061	0.061							
8. <i>Angelica ylvestris</i> (DQ133783)	0.055	0.053	0.055	0.056	0.055	0.055	0.023						
9. <i>Anthriscus carefolium</i> (JN895073)	0.064	0.062	0.064	0.065	0.064	0.064	0.052	0.052					
10. <i>Pimpinella saxifraga</i> (JN895073)	0.064	0.063	0.064	0.066	0.064	0.064	0.026	0.029	0.058				
11. <i>Carum carvi</i> (KX344524)	0.069	0.067	0.069	0.067	0.069	0.069	0.035	0.038	0.069	0.044			
12. <i>Daucus carota</i> (JN894953)	0.045	0.044	0.045	0.047	0.045	0.045	0.056	0.053	0.056	0.058	0.061		
13. <i>Sanicula europaea</i> (JN894982)	0.113	0.111	0.113	0.111	0.113	0.113	0.089	0.092	0.095	0.095	0.095	0.103	

Lisaea türleri ve familyaya ait NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)’dan alınan diğer türlerin genetik uzaklık matrisleri MEGA 6.0 programı ile hesaplanmıştır. Birbirine en yakın türler arasındaki değer 0,000 olup en uzak türlerin değeri 0,113 olarak hesaplanmıştır. *matK* primerine ait tüm genetik uzaklık değerleri ise Çizelge 4.6’daki gibidir.

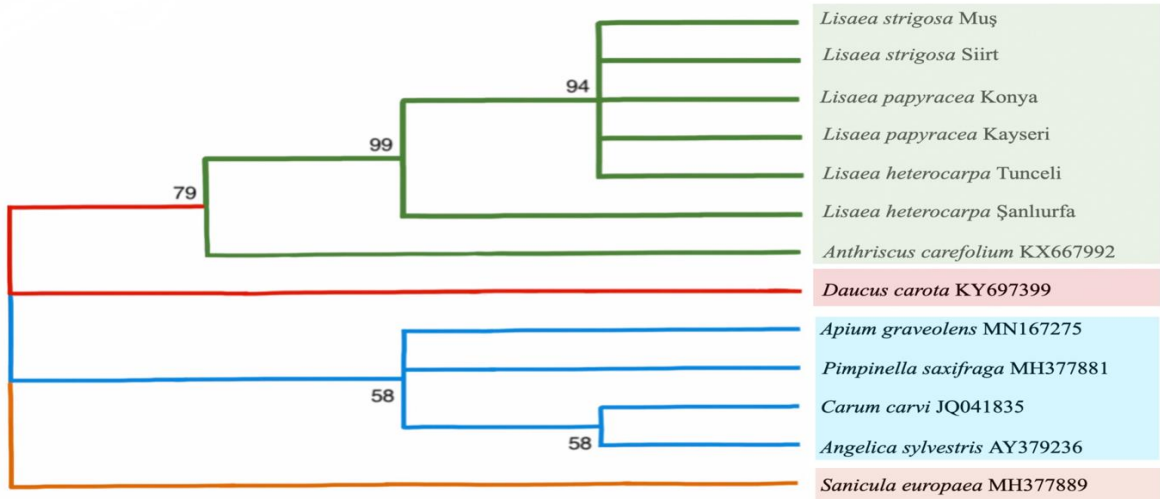
4.3.3. *Lisaea* Türlerine Ait *trnL-F*, *trnL*-intron ve *matK* Bölgelerinin Filogenetik Analizleri

MEGA 6.0 programı kullanılarak oluşturulan ağaçlarda ülkemiz sınırları içerisinde bulunan *Lisaea* türlerine ait toplam 6 farklı lokasyondan alınan örnekler laboratuvar işlemlerinden sonra sekanslanmaya hazır diziler haline getirildikten sonra familyaya ait diğer bitkilerle biyoinformatik uygulamalar ile hizalanıp aralarındaki genetik yakınlıklar farklı parametreler ile sonuçlandırılmıştır. Seçilen Apiaceae türlerine ait sekans dizileri FASTA formatında NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)’dan alınmıştır. MEGA 6.0 programı kullanılarak oluşturulan parametreler Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Karakter temelli metotlardan olan maximum likelihood (ML) ağacında çalışmadaki türler sırasıyla 3, 4 ve 3 gruba ayrılmıştır.



Şekil 4. 5. *trnL-F* Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı

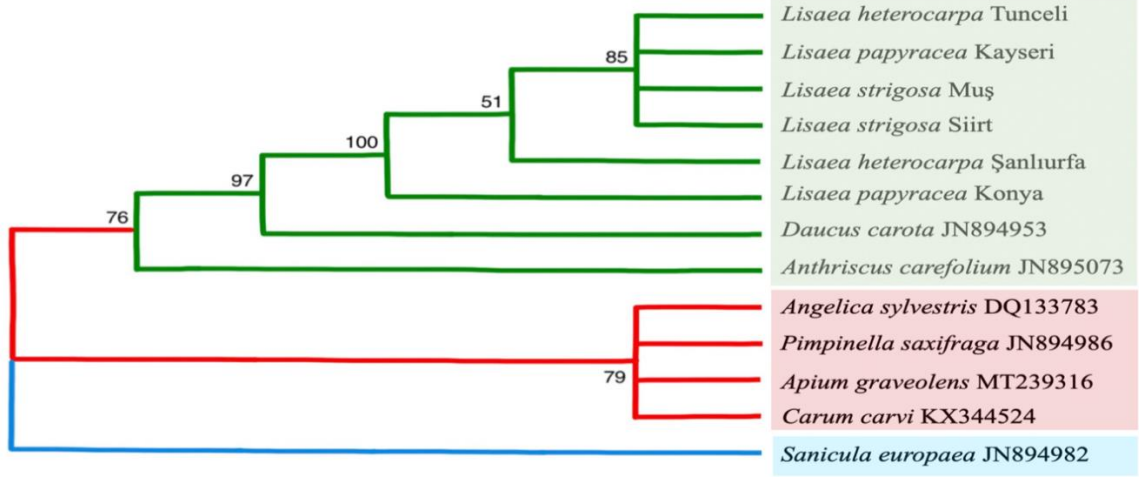
Şekil 4.7' de *trnL-F* e ait ağaç 2 gruba ayrılmıştır. İlk grupta tüm *Lisaea* türleri %99'luk bir değer ile monofiletik çıkmıştır. Ayrıca bu grup içinde *Anthriscus carefolium* (AF432022), *Daucus carota* (FJ490764), *Apium graveolens* (MT822132) ve *Sanicula europaea* (MH377906) bulunmaktadır. Ancak bu türler polifonik çıkmıştır. İkinci grupta da *Pimpinella saxifraga* (MH377898), *Carum carvi* (JG041835) ve *Angelica sylvestris* (AY379134) yer almaktadır. Bu grup %63'lük bir bootstrap değeri almıştır.



Şekil 4. 6. *trnL-intron* Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı

Şekil 4.8'de *trnL-intron* bölgesine ait filogenetik ağacına baktığımızda toplamda 4 grup dallanma gözlemlenmektedir. İlk grup içinde, *Lisaea strigosa* (Muş), *Lisaea strigosa* (Siirt), *Lisaea papyracea* (Konya), *Lisaea papyracea* (Kayseri), *Lisaea heterocarpa* (Tunceli), *Lisaea heterocarpa* (Şanlıurfa) ve *Anthriscus carefolium* (KX667992) yer almaktadır. Bu

grup %79'luk bootstrap değeri ile desteklenmiştir. İkinci grupta ise sadece *Daucus carota* (KY697399) yer almaktadır. Üçüncü grupta *Apium graveolens* (MN167275), *Pimpinella saxifraga* (MH377881), *Carum carvi* (JQ041835) ve *Angelica sylvestris* (AY397236) yer almakta ve bu grup %58'lik bootstrap değeri ile desteklenmiştir. Son olarak dördüncü grupta sadece *Sanicula europaea* (MH377889) bulunmaktadır.



Şekil 4. 7. *matK* Bölgesi Analizine Dayalı Maximum Likelihood Ağacı

Şekil 4.9'de *matK* bölgesine ait filogenetik ağacı incelediğinde ise toplam 3 gruba ayrıldığı gözlemlenmektedir. İlk grupta *Lisaea heterocarpa* (Tunceli), *Lisaea papyracea* (Kayseri), *Lisaea strigosa* (Muş), *Lisaea strigosa* (Siirt), *Lisaea heterocarpa* (Şanlıurfa), *Lisaea papyracea* (Konya), *Daucus carota* (JN894953) ve *Anthriscus carefolium* (JN895073) yer almaktadır. Bu grup %76'lık bootstrap değeri ile desteklenmiştir. İkinci grupta *Angelica sylvestris* (DQ133783), *Pimpinella saxifraga* (JN894986), *Apium graveolens* (MT239316) ve *Carum carvi* (KX344524) bulunmaktadır. Bu grup %79'luk bootstrap değeri ile desteklenmiştir. Son grupta tek başına *Sanicula europaea* (JN894982) yer almıştır.

Çalışılan türler Maximum likelihood (ML) topolojisi ile oluşturulan *trnL-F*, *trnL-intron* ve *matK* filogenetik ağaçları incelendiğinde *trnL-F* sonuçlarında *Lisaea* türleri bir grup içinde oluşturmuş, *Anthriscus carefolium*, *Daucus carota*, *Apium graveolens* ve *Sanicula europaea* türleri politomik çıkmıştır. *trnL-intron* ağacında *Anthriscus carefolium* türü ile birlikte, son olarak *matK* ağacında *Anthriscus carefolium* ve *Daucus carota* bir arada çıkmıştır. NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)'dan alınan bazı türlerin ve *Lisaea* türleri ile oluşturulan bu filogenetik ağaçlarda *Lisaea* türlerinin monofiletik olduğu ve daha önce yapılan çalışmalarda da *Daucus carota* ile aynı grupta yer aldığı bu çalışmada da gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışmasında *Lisaea* türlerinin kloroplast *trnL-F*, *trnL* intron ve *matK* sekans analizlerine dayalı filogenetik analizi gerçekleştirilmiştir. Her bir markır ile yapılan PZR işlemi sonucu elektroforez yöntemi ile görüntülenmiştir. Elde edilen bantlar sayesinde primelerimizin ilgili gen bölgelerine bağlandığını tespit ederek DNA örneklerimizi sekanslanmış ve biyoinformatik analizlere tabii tutulmuştur. İlk olarak nükleotid baz kompozisyonları incelendiğinde tüm markır tiplerinde Adenin, Guanin, Timin ve Sitozin bazlarının ortalama oranı birbirine yakın olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın ana materyali olan *Lisaea* türlerine ait geçmişte yapılan bazı çalışmalar bulunmaktadır. Lee ve Downie (1999), Apiaceae familyasının türlerinin morfolojik özelliklerinin yoğun gözlemlenmesinden dolayı sağlıklı bir sınıflandırma olmamasına karşın nrDNA ITS dizi verilerine dayalı çalışmayı yapmışlardır. *Lisaea* türlerinin de içinde bulunduğu bu çalışmada toplam 21 cins ve 68 tür bulunmaktadır. İncelenen filogenetik ağaçlarda *Lisaea* türleri *Torilis* grubunda yer almakta ve bu grupta *Daucus* ve *Turgenia* türleri de bulunmaktadır. Bizim *trnL-F* ve *matK* sonuçlarımız ITS sonuçlarına benzer çıkmıştır. Ancak *trnL* intron sonuçlarımızda *Daucus carota* ayrı bir klad olarak tespit edilmiştir. Downie, (2000), Apiaceae familyasının daha alt türlerinde doğru bir sınıflandırma yapabilmek için cpDNA *rpl16* ve *rpoC1* bölgelerine dayalı sistematik çalışma yapmıştır. Apiaceae familyasının Apioideae içindeki daha ileri seviyeli ilişkiler tartışmalı olduğundan kabul edilebilir modern bir sınıflandırma mevcut değildir. Bu çalışmada da kloroplast ribozomlar geni olan *rpl16* bölgesinin karşılaştırmalı dizilimi sayesinde Apioideae alt familyasının 119 türü ile Apiaceae alt familyasının 28 türü arasındaki evrimsel ilişkiler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan maksimum likelihood ve neighbor joining filogenetik ağaçlar incelendiğinde ise önceden yapılmış ITS çalışmaları ile tutarlı sonuçlar gözlemlenmiştir. *Lisaea* türü ise bu çalışmada yine *Torilis*, *Daucus* ve *Turgenia* türleri ile aynı grupta yer almıştır. Carmen vd., (2002), Çin-Himalaya florasında Apioideae'nin 13 türü ile yapmış olduğu 18S-26S (ITS1-ITS2) nrDNA'sına dayalı yaptığı moleküler sistematik çalışmada elde edilen Neighbor joining, Maksimum parsimoni ve Bayes analizi ağaçları topolojik olarak uyumlu çıkmıştır. Oluşturulan ağaçlarda *Lisaea heterocarpa* türü diğer çalışmalarda olduğu gibi *Turgenia latifolia* türü ile %100 bootstrap değeri ile desteklenmiştir.

Bu çalışmada ise Türkiye sınırları içerisinde yer alan *Lisaea* cinsinin türlerine ait yapılmış olan toplam 3 türe ait 6 farklı örnek ile moleküler boyutta sınıflandırılması yapılmıştır.

trnL-F, *trnL*-intron ve *matK* primerlerine dayalı sonuçlar ile *Lisaea* cinsleri ve Apiaceae familyasındaki bazı türler arasındaki genetik uzaklık ve filogenetik ilişkiler belirlenmiş ve çeşitli parametreler ile sonuçlar desteklenmiştir. Daha önce yapılan taksonomik sınıflandırmalarda çalışma materyalinin fizyolojik ve morfolojik özellikleri belirleyici kriterken biyoteknolojik yöntemlerin gelişmesi ile bu kriterler yetersiz kalabilmektedir. Sadece fiziksel özellikler ile sınıflandırma yapılırken gözlem tekniği uygulanmakta ve bu net olmayan taksonomik sınıflandırmalara sebep olabilmektedir. Bu sorun dahilinde cins tür ayrımı yapılabilmesi için organizmanın morfolojisinden ileriye, biyolojisine inmek taksonomik ayırım için en iyi araçtır. Bu çalışmanın materyali olan *Lisaea* cinsinin ise toplamda üç türü bulunmaktadır. *Lisaea* türlerine dair daha önce morfolojik ve fizyolojik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar bitki organ ölçüleri, rengi ve yaşam süreleri baz alınarak yapılmıştır. Bu sebeplerden dolayı *Lisaea* cinslerine ait taksonların belirlenmesi ve türler arasındaki ilişkilerin daha güvenilir bir şekilde sınıflandırılması için biz araştırmacıları yönlendirmiştir. Ancak moleküler boyutta sadece *Lisaea* türlerine ait taksonomik çalışma bulunmamaktadır. Türkiye içerisinde *Lisaea* cinsleri ile ilgili daha önce moleküler çalışmaların bulunmadığı ve *Lisaea* cinsleri ile ilgili yapılan diğer çalışmaların da sayısının az olması bu araştırmayı yapmamızın asıl sebeplerindedir. Yapılan bu çalışma sayesinde Türkiye’de yayılış gösteren *Lisaea* cinslerine ait *trnL-F*, *trnL*-intron ve *matK* gen bölgelerinin moleküler sistematik analizleri ile filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. Analizler yapılırken oluşturulan karakter temelli algoritma olan maximum likelihood ağaç topolojisi kullanılarak filogenetik ilişkileri incelenmiş, önceki çalışmalardaki veriler ile kıyaslanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda elde etmiş olduğumuz verilerin güvenilir sonuçlar verdiği doğrulanmıştır. Yapılan bu çalışma sayesinde Apiaceae familyası gibi büyük bir ailenin flora içinde sınıflandırılmasına yön olmuş, hala devam eden sınıflandırma çalışmalarına, Türkiye florasına ve farmakolojik öneme sahip olan bu bitkilerin araştırılmasına, türler arası morfolojik, anatomik, palinolojik, karyolojik vb. çalışmalara klavuzluk ederek katkı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmad, F., A. Khan, F., Awan, B., Sadia, H. ve Bahadur, S. (2010). Genetic diversity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm in Pakistan as revealed by RAPD analysis. *Genetics and Molecular Research*, 9(3): 1414-1420. Doi: 10.4238/vol9-3gmr862
- Altunbaş, M. ve Türel, İ. (2009). *Etroselinum crispum* (Maydanoz) Tohumu Uçucu Yağ Özütünün Letal Doz Düzeyleri ve Antienflamatuvar Aktivitesinin Deneysel Hayvanları Üzerinde Araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 21-25
- Asakura, Y. ve Barkan, A. (2007). A CRM domain protein functions dually in group I and group II intron splicing in land plant chloroplasts. *The Plant Cell*. 19(12), 3864-3875. doi:10.1105/tpc.107.055160
- Başer, B. ve Pehlivan, S. (2015). Türkiye'nin Farklı Bölgelerindeki *Prangos* Lindl. (Apiaceae) Cinsine Ait Taksonların Polenlerinin Morfolojik Farklılıkları. *BEU Journal of Science*, pp.183-188. doi:10.17798/beufen.11965
- Başbüyük, H., Bardakçı, F., Belshaw, R. ve Quicke, D. L. J. (2000). Phylogenetic Systematics. *Önder Matbaa*, doi:10.13140/RG.2.1.2573.4169
- Başköse, İ., Körüklü, S. T. ve Yapyak, A. E. (2020). The Plant biodiversity of Ankara University 10. yıl (Beşevler) campus. *Biological Diversity and Conservation*, 217-231. doi:10.46309/biodicon.2020.784491
- Brochmann, C., Xiang, Q. Y., Brunsfeld, S. J., Soltis, D. E. ve Soltis, P. S. (1998). Molecular evidence for polyploidy origins in *Saxifraga* (Saxifragaceae): the narrow arctic endemic *S. svalbardensis* and its widespread allies. *American Journal of Botany*, 85: 135–143. doi:10.2307/2446562
- Brouat, C., Gielly, L. ve Mckey, D. (2001). Phylogenetic relationships in the genus *Leonardoxa* (Leguminosae: Caesalpinioideae) inferred from chloroplast *trnL*-intron and *trnLtrnF* intergenic spacer sequences. *American Journal of Botany*. 88:143-149.
- Byoung-Yoon Lee ve Stephen R. Downie (1999) A Molecular Phylogeny of Apiaceae Tribe

- Caucalideae and Related Taxa: Inferences Based on ITS Sequence Data *Systematic Botany*, 24(3): pp. 461-479
- Carmen M. Valiejo-Roman, Elena I. Terentieva, Tagir H. Samigullin ve Michael G. Pimenov (2002). nrDNA ITS Sequences and Affinities of Sino-Himalayan Apioideae (Umbelliferae). Source: *Taxon* , pp. 685-701
- Clegg, M. T., Gaut, B. S., Learn, G. H. ve Morton, B. R. (1994). "Rates and patterns of chloroplast DNA evolution." *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* Vol. 91, 6795- 6801. doi:10.1073/pnas.91.15.6795
- Danış, K. (2016). Pertek (Tunceli) Yöresindeki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Morfolojik ve Kimyasal (Uçucu Yağları) Yönünden İncelenmesi. *T.C Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Tunceli
- Felsenstein, J. (1985). "Confidence Limits on Phylogenies: an Approach using the Bootstrap", *Evolution*. 39: 783-791. doi:10.2307/2408678
- Felsenstein, J. (2004). Inferring phylogenies. *Sinauer Associates Incorporated*. 0-87893-177-5. doi:10.1007/s00357-00357-005-0009-4
- Felsenstein, J. (1987). "Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set", *Molecular Evolution*, 26, 99-121.
- Filiz, A. ve Koç, T. (2012). "Bitkilerde DNA barkotları," *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, Sci. 12-011007 (53-57)
- Freeman, S. ve Herron, J.C. (1999). *Evrimsel Analiz*. Palme Yayıncılık.
- Fuse, S. ve Tamura, M. N. (2000). A phylogenetic analysis of the plastid *matK* gene with emphasis on Melanthiaceae sensu lato. *Plant Biology*, 2: 415–427. doi:10.1055/s-2000-5953
- Gielly, L. ve Taberlet, P. A. (1996). Phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequences. *Botanical Journal. Linn. Soc.* ;120:57–75. doi:10.2307/2656956
- Guenther, E. (1975). The Oils Vol II. D. Van Ltd. New York. *Essential Nostranl Ltd*. New York.

- Gülşen, O. ve Mutlu, N. (2005). Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Ala Tarım*, 4 (2): 1-12 ISSN-1304-2653
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*. İstanbul. E-ISSN: 1308-0262 14(2): 184-205
- Hedges, S. (2002) The origin and evolution of model organisms. *Nature Reviews Genetic* .;3(11):838–849.
- Hickey M. ve King C. (1997). Common families of flowering plants: Cambridge University Press, *General Botany* ISBN: 9780521576093
- Ito, M., Kawamoto, A., Kita, Y., Yukawa, T. ve Kurita, S. (1999). Phylogenetic relationships of Amariyllidaceae based on *matK* sequence data. *Journal of Plant Reseaerch*, 112: 207–216.
- Kaval, U. ve Tonçer, Ö. (2020). Apiaceae Lindley Familyasına Dâhil Bitkilerin Antibakteriyal, Antifungal Ve Antiviral Aktiviteleri Üzerine Bir Derleme. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*.
- Kaya, Ö. F. ve Karataş, A. (2019). Şanlıurfa’da Yapılmış Floristik Çalışmalara Genel Bir Bakış. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 1572-1609.
- Koch, M., Haubold, B. ve Mitchell, O. T. (2001). Molecular Systematics of the Brassicaceae: Evidence from coding plastidic *matK* and nuclear *chs* sequences. *American. Journal of Botany*, 88: 534–544. doi:10.2307/2657117
- Koroleva, O., Tomlinson, M., Leader, D., Shaw, P., and Doonan, J. (2005). High-throughput protein localization in *Arabidopsis* using Agrobacterium- mediated transient expression of GFP-ORF fusions. *Plant Journal*. doi:10.1111/j.1365-313X.2004.02281.x
- Kumar, P., Gupta, V., Misra, A., Modi, D. ve Pandey, B. (2009). Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. *Southern Cross Journals*, 141-162. ISSN: 1836-3644
- Kress, W. J. (2005). “The Molecular Phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A Complex and Polyphyletic Genus of Gingers”, *American Journal of Botany*. 167-178. doi:10.3732/ajb.92.1.167

- Lee, B. Y. ve Downie, S. (2000). Phylogenetic analysis of cpDNA restriction sites and *rps16* intron sequences reveals relationships among Apiaceae tribes *Caucalideae* *Scandiceae* and related taxa. *Plant Systematics and Evolution*, 35-60.
- Lee, S. B. ve Rasmussen, S. K. (2000). Molecular Markers in Some Medicinal Plants of the Apiaceae Family. *Euphytica*, 114: 87-91.
- Mes, T. H. M. (2000). Hairpins involving both inverted and direct repeats are associated with homoplasious indels in non-coding chloroplast DNA of *Taraxacum* (Lactuceae: Asteraceae). *Genome* 43:634–641. doi:10.1139/g99-135
- Moose, S. P. ve Mumm, R. H. (2008). Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiology*. 147(3): 969-977. doi:10.1104/pp.118232
- Onursal, S. S. ve Uğur, A. (1997). Böceklerin Filogenisi. *Türk Entomoloji Dergisi*. 21(1): 65-80
- Önenç, S. S. ve Açıkgöz, Z. (2005). Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü*, 50-55.
- Özçelik, H. ve Bebekli, Ö. (2020). GUL Herbariyumu'nun (Isparta) Apiaceae Familyası Envanteri ve Revizyonu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi (YYU Journal of Agricultural Science)*, 180-196.
- Öztürk, M. ve Özçelik, H. (1991). Doğu Anadolu'nun Faydalı Bitkileri (Useful Plants of East Anatolia), SİSKAV Vakfı(Siirt), *Semih Ofset ve Matba*, Ankara.
- Cuénoud, P. (2002), “Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences”, *American Journal of Botany*, 89(1), pp.132-144. doi:10.32/ajb.89.1.132
- Palmer, J. D. (1991). Plastid chromosomes: structure and evolution. *Cell Culture Some Cell Genetic. Plants.*;7A:5–53.
- Phoolcharoen, W. ve Sukrong, S. (2012). Molecular Analysis of *Vitex* Species Using Candidate DNA Barcoding and PCR-RFLP of the *matK* Gene for Authentication of *Vitex glabrata*. *Natural Product Communications*, pp. 125-128.
- Phylip. (2011). PHYLIP, <http://evolution.genetics.washington.edu/>

- Pimenov M. G. ve Leonov M. V. (1993): The genera of the Umbelliferae a nomenclator: *Botanical Garden of Moscow State University, Russia.*, pp.156 ISBN 0 947643 58
- Pimenov M. G. ve Leonov M. V. (2004). Asia the continent with the highest Umbelliferae Biodiversity, *South African Journal of Botany.*, ISSN:0254-6299
- Piredda R., Simeone, M. C., Attimonelli, M., Bellarosa, R. ve Schirone, B. (2011). Prospects of barcoding the Italian wild dendroflora: oaks reveal severe limitations to tracking species identity, *Molecular Ecology Resources*, vol. 11, pp. 72–83. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02900.x
- POWO. (2017). *Plants Of The World Online*. Kew Science: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:40206-1>
- Quandt, D., Müller, K., Stech, M., Frahm, J. P., Frey, W., Hilu, K.W. ve Borsch, T. (2004). Molecular evolution of the chloroplast *trnL-F* region in land plants. *Monographs System. Missouri Botanic Garden.*;98:13–37.
- Quandt, D. ve Stech, M. (2005). Molecular evolution of the *trnL* (UAA) intron in bryophytes. *Mol. Phylogenet. Evolution* ;36:429–443. doi:10.1016/j.ympev.2005.03.014
- Reis, M., Hay, J. and Goldstein, A. (2009). Using non-homogeneous models of nucleotide substitution to identify host shift events: application to the origin of the 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Journal Molecular Evolution* ;69(4):333–345. doi: 10.1007/s00239-009-9282. doi:10.1007/s00239-009-9282-x
- Saiki, R., Gelfand, D., Stoffel, S., Scharf, S., Higuchi, R., Horn, G., Mullis, K. ve Erlich, H. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487–491.
- Sancar, P. Y. (2021). Çeşitli Bitki Taksonlarında Bazı DNA İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Analizi. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, 117-128. doi:10.47898/ijeased.834338
- Selvaraj, A. (2008). “Phylogenetic analysis of chloroplast *matK* gene from Zingiberaceae for plant DNA barcoding,” *Bioinformation*, pp. 24–27. doi:10.30574/gscbps.2019.9.2.0177

- Shinozaki, K., Ohme, M., Tanaka, M., Wakasugi, T., Hayashida, N., Matsubayashi, T., Zaita, N., Chunwongse, J., Obokata, J. ve Yamaguchi-Shinozaki, K. vd., (1986). The complete nucleotide sequence of tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *EMBO J.*;5:2043–2049. doi:10.1007/BF02669253
- Sırrı, M. (2019). Buğday Ekim Alanlarında Sorun Oluşturan Yabancı Ot Türleri: Siirt İli Örneği. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 142-152. doi:10.19159/tutad.453465
- Simon, D., Fewer, D., Friedl, T. ve Bhattacharya, D. (2003). Phylogeny and self splicing ability of the plastid tRNA-Leu group I intron. *Journal Molecular Evolution*. 57: 710-720. doi:10.1007/s00239-003-2533-3
- Singh, G. B. (2015). Fundamentals of Bioinformatics and Computational Biology, *Methods and Exercises in Matlab*. 235-270. doi:10.1007/978-3-319-11403-3
- Soejima, A. ve Nagamasu, H. (2004). Phylogenetic analysis of Asian *Symplocos* (Symplocaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. *Journal of Plant Research*, 117(3):199-207. doi:/10.1007/s10265-004-0151-9
- Steele, K. P. ve Vilgalys, R. (1994). Phylogenetic analysis of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. *Systematic Botany*, 19: 126–142. doi:10.2307/2419717
- Stephen R. Downie, Deborah S. Katz-Downie ve Mark F. Watson (2000). A phylogeny of the flowering plant family apiaceae based on chloroplast dna *rpl16* and *rpoC1* intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily apioidae *American Journal of Botany* 87(2): 273–292.
- Stuyver, L., De, G. S., Van, G. C., Zoulim, F., Fried, M., Schinazi, R. ve Rossau, R. A. (2000). New genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *Journal Genetic Virology*: pp.81:67. doi: 10.1099/0022-1317-81-1-67
- Soltis, P. S., Soltis, D. E. ve Doyle, J. J. (1992) Molecular systematics of plants. *Chapman & Hall*, New York. 0-41202-231-1. doi:10.1007/978-1-4615-5419-6_1

- Soltis, P. S., Soltis, D. E., ve Doyle, J. J. (1998). *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers Boston, Dordrecht, London. 0-41211-131-4. doi:10.1007/978-1-4615-5419-6
- Steel, M. (2005). Phylogenetic diversity and the greedy algorithm. *System Biology*;54(4):527. doi: 10.1080/10635150590947023.
- Swofford, (2001). PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods).Version 4.0b10. Doi:10.1111/j.0014-3820.2002.tb00191.x
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A. ve Willerslev, E. (2007). *Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding*. doi:10.1093/nar/gkl938
- National Center for Biotechnology Information: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1807943/>
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17:1105–1109. doi:10.1007/BF00037152
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A. Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Tamura, M. N., Yamashita, J., Fuse, S. Haraguchi, M. (2004). Molecular phylogeny of monocotyledons inferred from combined analysis of plastid *matK* and *rbcL* gene sequences. *Journal of Plant Research*, 117: 109–120. doi:10.1007/s10265-003-0133-3
- Treeview. (2011). *Taxonomy Zoology*. <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/treeview.html>. doi:10.1093/bioinformatics/12.4.357
- TÜBİVES, 2022. [<https://www.tubives.com/>], Erişim Tarihi: 22.08.2022.
- Türkan, İ. (2007). Post genomik çağda biyolojide gelişmeler, *PPT sunusu*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Ulusoy, F. (2017). Türkiye’de Yayılış Gösteren *Caropodium stapf & Wettst.* (Apiaceae) Cinsi Üyelerinin Anatomik Özellikleri. *T.C. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 1-84.

- Van, O. M. ve Kayser, M. (2009). Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human Mutation*; 30(2):E386–E394. doi: 10.1002/humu.20921. doi:10.1002/humu.20921
- Veisi, M. ve Moeini, M. M. (2015). Determination of population indices and weed distribution map in barley fields of Kermanshah Province, Iran. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 446-458.
- Wang, X., Zhou, T., Bai, and G. Zhao, Y. (2018). Complete chloroplast genome sequence of *Fagopyrum dibotrys*: genome features, comparative analysis and phylogenetic relationships. *Scientific Reports*, 1-12.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. and Meyer, W. (1995). DNA Fingerprinting in Plants and Fungi (ed. Arbor, A.) CRC Press, *Boca Raton*, pp. 1–3
- Woese, C. R, Stackebrandt, E., Macke, T. J. and Fox, G. E. (1985). A Phylogenetic Definition of the Major Eubacterial Taxa. *System Apply Microbiology* 6: 143-15.1. doi:10.1016/S0723-2020(85)80047-3
- Xu, M. Q., Kaathe, S., Goodrich, H., Nierzwicki, B. S. ve Shub, D. (1990). Bacterial origin of a chloroplast intron: Conserved self-splicing group I introns in cyanobacteria. *Science* 250: 1566-1569.
- Yakışan, M., Selvi, M. ve Yürük, N. (2007). Biyoloji Öğretmen Adaylarının Tohumlu Bitkiler Hakkındaki Alternatif Kavramları. *Journal of Turkish Science Education*, 60-79.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N. (2001). Markör Destekli Seleksiyonun Buğday Islahında Kullanımı 27(1), 105-112.
- Yılmaz, G., Kaya, A. ve Koyuncu, M. (2016). Türkiye’de Yetişen *Heptaptera* marg. & *Reuter* (Apiaceae) Türlerinin Meyve Morfolojisi Ve Anatomisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 26-42.
- Zhang, Y., Zhang, A., Li, X. ve Congmin. (2020). The Role of Chloroplast Gene Expression in Plant Responses to Environmental Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22-38. doi:10.3390/ijms21176082

Zuckerlandl, E. ve Pauling, L. (1962). In: *Horizons in Biochemistry*. Bryson V, Vogel HJ, editor. *Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity*; pp. 189–225. doi:10.1534%2Fgenetics.104.75135



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“TÜRKİYE’DE YETİŞEN *LISAEA* BOISS. (APIACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN KLOROPLAST DNA DİZİLERİNE (*TRNL-F*, *TRNL-INTRON* VE *MATK*) DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Fadime EFE

20/12/2022

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Fadime EFE

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi / Ziraat Fakültesi / Tarımsal Biyoteknoloji

Lisansüstü Öğrenimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Tarımsal Biyoteknoloji / Yüksek Lisans

Yabancı Diller

İngilizce

İş Deneyimi

Ziraat Mühendisi/ Lider Gıda Sera Tesisleri 2019-2020

MAKALELER

Sevindik E. ve Efe F. (2020). Analysis of Genetic Diversity Between *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (Rosaceae) Populations Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture 77(2):71-75. doi:10.15835/buasvmcn-hort:2020.0012

Sevindik E., Aydın S., Apaydın E., Okan K. ve Efe F. (2019). Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils From *Laurus nobilis* L. Flowers and Leaves Grown in the West Anatolian Area Fresenius Environmental Bulletin Volume 28 ± No. 9/2019. pages 6555-6559

TÜBİTAK PROJELERİ

1) Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren *Punica granatum* L. (Nar) Popülasyonlarının Kloroplast (cpDNA) *trnL-F* Bölgelerine ve ISSR Markırlarına Dayalı Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi

(TÜBİTAK, 2017/2) 2209-A

2) Ardahan Ekolojik Koşullarında Yetişen Armut Genotiplerinin ISSR Markır Tekniği Kullanılarak Moleküler Karakterizasyonunun Belirlenmesi (TÜBİTAK, 2018/2) 2209-A

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

1) Türkiye’de yayılış gösteren *Lisaea* boiss. (Apiaceae) Cinsine Ait Türlerin Kloroplast DNA (cpDNA) *trnL-F*, *trnL-intron* ve *matK* Bölgelerine Dayalı Filogenetik Analizi Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP, 2021)

ULUSLARARASI KONGRELER

1) Bazı *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) Türlerine Ait Terpene-Synhase Proteinlerinin Biyoinformatik ve Filogenetik Analizi

1. International Young Researchers Student Congress (Uluslararası Genç Araştırmacılar Öğrenci Kongresi) 28-30 Kasım 2019 Burdur/Turkey

2) Ege Bölgesinde Yetişen *Punica granatum* L. (Nar) Genotiplerinin ISSR Markırlarıyla Moleküler Genetik Karakterizasyonu 1st International Congress on Medical Sciences and Biotechnology (1. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Biyoteknoloji Kongresi)

3) Biyoinformatik Araçlar Kullanılarak Bazı *Vitis* L. Türlerine ait Stilbene-synthase Proteinlerinin İn Siliko Analizini III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

4) Antibacterial Activity of Essential Oils from *Laurus nobilis* L. Flowers and Leaves Grown in the West Anatolian Area III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

5) Biyoinformatik Araçlar Kullanılarak Bazı *Vitis* L. Türlerine ait Stilbene synthase Proteinlerinin İn Siliko Analizini

III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

6) Genetic Diversity Analysis of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. Populations Grown in the Ege Region of Turkey III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

7) Bazı Rosaceae (Gülgiller) Türlerine Ait Antosiyanidin Sentaz Proteinlerinin Biyoinformatik ve Filogenetik Karakterizasyonu III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

8) Ege Bölgesinde Yetişen Bazı Yenidünya (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) Popülasyonlarının Moleküler Karakterizasyonu

III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 26-29 Eylül 2018 Çanakkale/Turkey

TEZ KONULARI

1) Lisans Tezi

Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren *Punica granatum* Popülasyonlarının Kloroplast cpDNA *trnL-F* Sekansına Dayalı Moleküler Karakterizasyonu Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi 2019