

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SIDERITIS* L. (LAMIACEAE) CİNSİNİN
HESIODIA VE *BURGSODORFIA* SEKSİYONLARININ ITS nrDNA İLE *trnL-F*
VE *ndhF* cpDNA DİZİLERİYLE MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülsüm GÖREN

Balıkesir, Temmuz-2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SIDERITIS* L. (LAMIACEAE) CİNSİNİN
HESIODIA VE *BURGSODORFIA* SEKSİYONLARININ ITS nrDNA İLE *trnL-F*
VE *ndhF* cpDNA DİZİLERİYLE MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülsüm GÖREN

Balıkesir, Temmuz-2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SIDERITIS* L. (LAMIACEAE) CİNSİNİN
HESIODIA VE *BURGDORFIA* SEKSİYONLARININ ITS nrDNA İLE *trnL-F*
VE *ndhF* cpDNA DİZİLERİYLE MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülsüm GÖREN

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Sınav Tarihi: 21.07.2011

Jüri Üyeleri: Yrd. Doç.Dr. Fatih COŞKUN (Danışman- BAÜ)
Prof. Dr. Güldam TÜMEN (BAÜ)
Yrd. Doç. Dr. Ekrem AKÇİÇEK (BAÜ)

Balıkesir, Temmuz-2011

Bu yüksek lisans alışması TÜBİTAK 108T158 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SIDERITIS* L. (LAMIACEAE) CİNSİNİN *HESIODIA* VE *BURGSORFIA* SEKSİYONLARININ ITS nrDNA İLE *trnL-F* VE *ndhF* cpDNA DİZİLERİYLE MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ

Gülsüm GÖREN

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi / Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Balıkesir, 2011

Türkiye *Sideritis* L. türlerinin sistematik revizyonu Duman ve Arkadaşları tarafından 2005'te yapılmış olup, bu çalışmaya göre Türkiye'de *Sideritis* L. (Lamiaceae) cinsine ait 44 türe ait 55 takson belirlenmiştir. *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* seksiyonlarında 5 takson bulunmaktadır. *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* seksiyonlarına ait taksonlar tek yıllıktır. *Sideritis lanata*, *Sideritis romana* subsp.romana, *Sideritis curvidens* *Burgsdorfia* seksiyonunda ; *Sideritis montana* subsp.montana, *Sideritis montana* subsp.remota *Hesiodia* seksiyonunda yer almaktadır.

Tek yıllık *Sideritis* L. türleri ile birçok araştırma yapılmıştır ama moleküler genetik verilerine dayalı filogenetik ilişkileri daha önceki çalışmalarda yapılmamıştır. Bu çalışma ile; Türkiye'de yayılış gösteren *Sideritis* cinsinin tek yıllık taksonlarının ITS nrDNA ile *trnL-F* ve *ndhF* cpDNA bölgelerinin çoğaltılması amaçlanmıştır. Bu bölgeler DNA dizilemeyle incelenerek, Türkiye'deki tek yıllık *Sideritis* taksonlarının filogenetik ilişkileri ve taksonomik pozisyonları netleştirilmiştir. Bu sonuçlar PAUP 4.0 programı yardımıyla filogenetik ağaç oluşturmada kullanılmıştır.

Çalışılan bitki örneklerinin her birinin ITS, *trnL-F* ve *ndhF* bölgelerine ait DNA dizileri Maksimum Parsimoni (MP) kriteri altında Dallandır-Bağla-Analiz (Branch-and-Bound) ile yapılmıştır. Sonrasında mutlak uyumluluk ağaçları oluşturularak Bootstrap analizi yapılmıştır. Genetik uzaklık ağaçları ise UPGMA ve NJ analizleriyle elde edilmiştir. ITS bölgesine göre oluşturulan ağaçların *ndhF* ve *trnL-F* bölgelerine göre oluşturulan ağaçlardan sistematik açıdan morfolojik verilerle karşılaştırınca daha kullanışlı olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, tek yıllık *Sideritis* türleri monofiletik olup, *Sideritis romana* ve *Sideritis curvidens* ise ayrı türler olarak desteklenmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: *Sideritis*, *Hesiodia*, *Burgsdorfia*, nrDNA, cpDNA, ITS, *trnL-F*, *ndhF*, Filogenetik Analiz, PAUP.

ABSTRACT

MOLECULAR SYSTEMATIC ANALYSIS OF THE SECTIONS *HESIODIA* AND *BURGSORFIA* OF THE GENUS *SIDERITIS* L. (LAMIACEAE) DISTRIBUTED IN TURKEY USING ITS nrDNA, *trnL-F* cpDNA, AND *ndhF* cpDNA SEQUENCES

Gülsüm GÖREN

Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology

(Msc. Thesis / Supervisor: Assist. Prof. Dr. Fatih Coşkun)

Balıkesir-Turkey, 2011

Sideritis L. species native to Turkey were revised by Duman et al. in 2005 and the members of this genus have been delimited with 44 species in total of 55 taxa. There are 5 taxa in *Hesiodia* and *Burgsdorfia* sections. Taxa belonging to the sections *Hesiodia* and *Burgsdorfia* are annual. *Sideritis lanata*, *Sideritis romana* subsp.*romana*, and *Sideritis curvidens* are in the section *Burgsdorfia*; *Sideritis montana* subsp. *montana* and *Sideritis montana* subsp.*remota* are in the section *Hesiodia*.

A lot of investigations have been done with the annual *Sideritis* species; however, phylogenetic relationships based on the molecular genetic data have not been done yet. For this study; it was aimed to study the annual *Sideritis* taxa distributing in Turkey via employing the amplification of ITS nrDNA, *trnL-F*, and *ndhF* cpDNA regions. These regions were investigated by DNA sequencing and analyzing techniques and the annual taxa belonging to the genus *Sideritis* were determined the phylogenetic relationships and taxonomic positions of the taxa were clarified. The obtained data by DNA sequencing and editing were used to construct phylogenetic trees via the pylogenetic software named as PAUP* 4.0.

ITS, *trnL-F* and *ndhF* DNA sequences of each plant sample studied were analyzed under parsimony criterion using Branch-and-Bound algorithm. Then the strict consensus trees were obtained and the Bootstrap analysis was performed under Maksimum Parsimony (MP) criterion. Genetic distance trees were obtained via UPGMA and NJ search strategies. Phylogenetic trees based on ITS region were found to be more useful than phylogenetic trees based on *trnL-F* and *ndhF* regions. In conclusion, Annual *Sideritis* taxa were found to be monophyletic, *Sideritis romana* and *Sideritis curvidens* were supported to be as distinct species.

KEYWORDS: *Sideritis*, *Hesiodia*, *Burgsdorfia*, nrDNA, cpDNA, ITS, *trnL-F*, *ndhF*, phylogenetic analysis, PAUP.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	ii
ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT	iii
KEYWORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ÖNSÖZ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Türkiye’de Labiatae (Lamiaceae) Familyası	2
1.1.1 Genel Özellikleri	2
1.2 Türkiye’de Yetişen <i>Sideritis</i> Cinsinin <i>Hesiodia</i> ve <i>Burgsdorfia</i> Seksiyonlarına Ait Taksonlar	2
1.2.1 <i>Sideritis lanata</i> L.	2
1.2.2 <i>Sideritis romana</i> L.	3
1.2.2.1 <i>Sideritis romana</i> L. subsp. <i>romana</i> L.	4
1.2.3 <i>Sideritis curvidens</i> (Stapf)	4
1.2.4 <i>Sideritis montana</i> L.	4
1.2.4.1 <i>Sideritis montana</i> L. subsp. <i>montana</i> L.	5
1.2.4.2 <i>Sideritis montana</i> L. subsp. <i>remota</i> (d’Urv) P.W.Ball ex Heywood	5
1.3 <i>Sideritis</i> L. Cinsinin <i>Hesiodia</i> ve <i>Burgsdorfia</i> Seksiyonlarına Ait Taksonların Kimyasal Özellikleri	6
1.4 Moleküler Sistematik	6
1.4.1 Moleküler Sistematikte Kullanılan DNA Çeşitleri	7
1.4.1.1 Çekirdek DNA’sının Genel Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı	7
1.4.1.1.1 İç Transkribe Olan Boşluklar (Internal Transcribed Spacers, ITS)	8
1.4.1.2 Mitokondriyal DNA’nın Genel Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı	9

1.4.1.3 Kloroplast DNA'sının Genel Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı	10
1.4.1.3.1 Genler Arası Boşluk (<i>trnL-trnF</i>)	11
1.4.1.3.2 <i>ndhF</i> Geni	12
1.4.2 Moleküler Sistematikte Kullanılan Yöntemler	13
1.4.2.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	13
1.4.2.2 RADP (Randomly Amplified Polimorphic DNA)	14
1.4.2.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	15
1.4.2.4 SSR (Simple Sequence Repeats)	16
1.4.2.5 VNTR (Variable Number Tandem Repeat)	16
2. MATERYAL VE YÖNTEM	17
2.1 Materyal	17
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri	17
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	17
2.1.2.1 Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar	18
2.1.2.1.1 Fenol/Kloroform/İzoamilalkol İle Yapılan DNA İzolasyonu Kimyasalları	18
2.1.2.1.2 SIGMA Kiti İle yapılan İzolasyonda Kullanılan Kimyasallar	18
2.1.2.1.3 PZR'de (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar	19
2.1.2.1.4 Agaroz Jel Elektroforez Tamponları	19
2.2 Yöntem	20
2.2.1 Genomik DNA İzolasyon Yöntemi	20
2.2.1.1 Fenol/Kloroform/İzoamilalkol Protokolü	20
2.2.1.2 SIGMA Kiti ile Yapılan DNA İzolasyon Protokolü	21
2.2.2 DNA Saflık ve Miktar Tayini	22
2.2.3 Kullanılan PZR Protokolü	22
2.2.4 Agaroz Jel Elektroforezi	23
2.2.5 Dizi Analizi	24
2.2.6 Filogenetik Analiz	24
3. BULGULAR	25
3.1 <i>Sideritis</i> Cinsinin <i>Hesiodia</i> ve <i>Burgsdorfia</i> Seksiyonlarına Ait Taksonların Morfolojik Karakterlere Dayalı Taksonomi Anahtarı	25
3.2 Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalleri ve Lokaliteleri	25
3.3 DNA İzolasyonu	27
3.4 PZR Amplifikasyonu	27
3.5 Dizileme ve Dizi Analizi	30
3.5.1. Dizileme Reaksiyonu	30
3.5.2 Dizilerin İşlenmesi	31
3.5.3 Dizi Hizalaması	32

3. 6 Filogenetik Analiz	32
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	34
4.1 ITS Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi	34
4.2 <i>trnL-F</i> Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi	42
4.3 <i>ndhF</i> Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi	46
5. EKLER	51
5.1 Çalışılan Taksonların ITS Bölgesi Dizi Hizalaması	51
5.2 Çalışılan Taksonların <i>trnL-F</i> Bölgesi Dizi Hizalaması	54
5.3. Çalışılan Taksonların <i>ndhF</i> Bölgesi Dizi Hizalaması	57
6. KAYNAKLAR	61

KISALTMALAR

<u>Kısaltma Adı</u>	<u>Tanımı</u>
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
SSR	Basit Dizi Tekrarları
VNTRs	Çeşitli Sayıda Ardışık Tekrarlar
ITS	Internal Transcribed Spacer
cDNA	Complementary DNA (Komplementer DNA)
dNTP	Deoksiribonükleosid Trifosfat
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
mtDNA	Mitokondri DNA'sı
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
gDNA	Genomik DNA
TE	Tris-EDTA
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
MP	Maximum Parsimony
PAUP	Phylogenetic Analysis Using Parsimony
bp	Baz Çifti
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETS	External Transcribed Spacer
IGS	Intergenic Spacer
cpDNA	Kloroplast DNA
rbcL	Ribuloz Bifosfat Karboksilaz
NOR	Nükleolar Organizer Region
nrDNA	Nüklear Ribozomal DNA
NTS	Non Transcribed Spacer
ETOH	Etil Alkol / Etanol

rpm	Dakikadaki Döngü Sayısı
TBE	Tris-Borikasit- EDTA
UPGMA	Unweighted Pair-Group Metod of Arithmetic Avarage
NJ	Neighbour Joining
dH₂O	Distile Su
NaCl	Sodyum Klorür
NaAc	Sodyum Asetat
L.	Linne
T_m	Erime Sıcaklıkları
NCBI	National Center For Biotechnology Information
MgCl₂	Magnezyum Klorür

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil Numarası</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1	Bitki Çekirdek Genomunun Bileşenleri	8
Şekil 2	Çekirdek Ribozomal DNA'sının Tekrarlı Üniteleri	9
Şekil 3	<i>Arabidopsis thaliana</i> 'nın Mitokondri Genomunun Yapısı	10
Şekil 4	tRNA Genleri ve Kodlama Yapmayan Bölgenin Şematik Gösterimi	12
Şekil 5	Tütündeki Kloroplast DNA'sında Bulunan <i>ndhF</i> Bölgesinin Haritası	13
Şekil 6	Angiospermelerde Kloroplast, Mitokondri ve Çekirdek DNA Bölgelerinin Çeşitli Taksonomik Seviyelerdeki Kullanımı	13
Şekil 7	Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinin gDNA İzolasyonuna Ait Jel Fotoğrafı	27
Şekil 8	Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinin ITS Bölgesine Ait Jel Görüntüsü	28
Şekil 9	Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinin ITS Bölgesine Ait Bant Profilleri	28
Şekil 10	Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinin <i>ndhF</i> Bölgesine Jel Görüntüsü	29
Şekil 11	Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinin <i>ndhF</i> Bölgesine Ait jel Fotoğrafı	29
Şekil 12	Bazı <i>Sideritis</i> Taksonlarının <i>trnL-F</i> Bölgesine Ait Jel Fotoğrafı	30
Şekil 13	Sequencher 4.10.1 Programındaki Kromatogramdan Bir Görüntü	32
Şekil 14	ClustalW Programında Hizalanan Dizilerinden Bir Bölüm	32
Şekil 15	ITS Bölgesinin Branch and Bound İle Elde Edilen 1 Numaralı Ağaç	35
Şekil 16	ITS Bölgesinin Parsimoni İle Elde Edilen 1 Numaralı Ağacın Strict Consensusu.	37
Şekil 17	ITS Bölgesinin Bootstrap Analizi Sonucu Oluşan Ağacı	38
Şekil 18	ITS Bölgesinin Neighbour-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı	40
Şekil 19	ITS Bölgesinin UPGMA Analizi Sonucu Oluşan Ağacı	40
Şekil 20	<i>trnL-F</i> Bölgesinin Branch and Bound Analiziyle Elde Edilen 1 Numaralı Ağacı	42
Şekil 21	<i>trnL-F</i> Bölgesinin Parsimoni Analizi Sonucu Elde Edilen 1 Numaralı Ağacın Strict Consensusu	43
Şekil 22	<i>trnL-F</i> Bölgesinin Bootstrap Analizi Sonucu Elde Edilen Ağacı	44
Şekil 23	<i>trnL-F</i> Bölgesi İçin Yapılan NJ Analizi	45
Şekil 24	<i>trnL-F</i> Bölgesi İçin UPGMA Analizi	45
Şekil 25	<i>ndhF</i> Bölgesi İçin Yapılan Branch And Bound Analizi	46
Şekil 26	<i>ndhF</i> Bölgesi İçin Oluşturulan Mutlak Uyumluluk Ağacı	47
Şekil 27	<i>ndhF</i> Bölgesi İçin Oluşturulan Bootstrap Analizi	48
Şekil 28	<i>ndhF</i> bölgesi için yapılan NJ analizi	48
Şekil 29	<i>ndhF</i> bölgesi için Yapılan UPGMA analizi	49

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge Numarası</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1	Türkiye’de Yetişen Tek Yıllık <i>Sideritis</i> Türlerinin Kimyasal Bileşenleri	6
Çizelge 2	Fenol/Kloroform/İzoamil Alkol Metoduyla Yapılan DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar	18
Çizelge 3	PZR’de Kullanılan Primerler ve Özellikleri	19
Çizelge 4	PZR’de Kullanılan Kimyasallar	19
Çizelge 5	5X TBE Tamponunda Kullanılan Kimyasallar	20
Çizelge 6	ITS Primeri İçin Kullanılan PZR Programı	22
Çizelge 7	<i>ndhF</i> Primeri için Kullanılan PZR Programı	23
Çizelge 8	<i>trnL-F</i> Primeri İçin Kullanılan PZR Programı	23
Çizelge 9	Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri	25
Çizelge 10	Bitki Örneklerinin Gönderildikleri Dizi Analizi Şirketleri	30

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana her türlü desteği sağlayan, tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren, danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih ÇOŞKUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Kullanılan bitki örneklerinin temin edilmesindeki yardımlarından dolayı Gazi Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hayri DUMAN'a, Balıkesir Üniversitesi Öğretim Üyesi danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN'a, Sayın Prof. Dr. Gülendam TÜMEN'e, Sayın Doç. Dr. Tuncay DİRMENCİ'ye ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekrem AKÇİÇEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Ders ve laboratuvar aşamasında deneyimlerinden ve bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a teşekkürlerimi sunarım.

108T158 numaralı projeye, gerekli teçhizata, kimyasallara ve sarf malzemelere sahip olmamızı sağlayan TUBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam için gerekli laboratuvar imkanlarını sağlayan BÜTAM Müdürlüğü'ne, bu merkezde çalışan Mehmet UÇKUN'a, Ferit KARANFİL'e ve diğer çalışanlarına teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bir arada hoş vakit geçirdiğimiz ve deneylerimizin büyük çoğunluğunu beraber yaptığımız arkadaşım Cüneyt TEZ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca, laboratuvar çalışmalarım sırasında benden bilgisini, yardımlarını ve arkadaşlıklarını esirgemeyen Şakir AKGÜN'e, Arş. Gör. Berna SANÖN'e, Öznur SUAKAR'a, Arş. Gör. Görkem DENİZ SÖNMEZ'e, Emre SEVİNDİK'e, Necla ŞAHİN'e, Nur Gökçe ÇETİNER'e, Elif TUNÇBAŞ'a, Taner ÖZCAN'a ve diğer tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Her daim maddi manevi desteklerini benden asla esirgemeyen AİLEME ve gösterdiği sabır ve fedakarlık dolayısıyla Ömer YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Balıkesir, 2011

Gülsüm GÖREN

1. GİRİŞ

Sideritis L. cinsi, bitkiler aleminin zengin familyalarından biri olan Lamiaceae familyasına aittir. Lamiaceae familyası bitkileri hemen herçeşit habitatta ve yükseltide yayılış göstermekle birlikte asıl yayılış alanı Akdeniz havzasıdır [2]. Dünyada tek yıllık ve çok yıllık yaklaşık 150 tür ile [3], ülkemizde 41'i endemik 54 tür ve tür altı seviyede takson ile temsil edilmektedir [3,4]. *Sideritis* türleri halk arasında adaçayı, dağçayı, yaylaçayı adları ile tanınmakta ve çay şeklinde kullanılabilir. Halk tıbbında sinir sistemi uyarıcısı, antiinflamatuvar, analjezik, soğuk algınlıklarında öksürük kesici ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [5]. Son yıllarda *Sideritis*'in antistres [6], antioksidan [7], ve antibakteriyal [8] etkileri belirlenmiştir.

Bitki türleri tanımlanırken son yıllarda morfolojik karakterlerin yanı sıra moleküler karakterlerde kullanılmaya başlanmıştır [9]. Bunun için genomik DNA (gDNA), kloroplast DNA (cp DNA) ve mitokondriyal DNA'da (mtDNA) yer alan birçok bölgeden bitkilerin sınıflandırılması amacıyla yararlanılmaktadır. Morfolojik karakterler filogenetik bilgi açısından yetersiz olduğu zamanlarda moleküler dizi analizleri filogenetik analizler açısından verimli olmaktadır [10]. Sistemik araştırmacılar dizilerin filogenesinin organizmaların filogenisine yakın olduğunu farzetmektedir [11]. Bu amaçla çekirdek DNA'sı (nr DNA) üzerinde bulunan iç transkribe olan boşluklar (ITS), cpDNA üzerinde bulunan genler arası boşluklar (*trnL-F*) ve protein kodlayan (*ndhF*) bölgeleri tür içi çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan bölgelerdir. Bu tür çalışmalarda gDNA ITS, cpDNA *trnL-F* ve *ndhF* bölgeleri çoğaltılıp baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki akrabalıklar belirlenebilmektedir.

Bu çalışmanın amacı Türkiye'de yayılış gösteren *Sideritis* cinsinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* seksiyonlarına ait taksonların ITS, *trnL-F* ve *ndhF* bölgelerindeki nükleotid baz dizisini PCR yöntemi kullanılarak belirlemek ve böylece *Sideritis*

cinsine ait taksonların akrabalık ilişkilerini ortaya çıkararak taksonomik problemlerin çözümüne katkıda bulunmaktadır.

1.1 Türkiye’de Labiatae (Lamiaceae) Familyası

1.1.1 Genel Özellikleri

Otlar veya çalılar, genellikle glandular ve aromatik, gövdeler 4 köşeli veya değil. Yapraklar stipulasız, basit, bazen pennat, daima opposit, ovat, eliptik, rotundat. Temel çiçek durumu brakte veya floral yaprakların koltuğunda taşınan vertisillastrum şeklindedir. Ayrıca vertisillastrumlar spikai baş, rasemus veya simoz durumlar şeklinde düzenlenmiş olabilir. Çiçekler hermafrodit veya erkek sterildir. Brakteler yapraklara benzer veya belirgin şekilde farklılaşmıştır. Brakteoller mevcut veya eksiktir. Kaliks genellikle 5 loplu, üst lop 3, alt lop 2 dişlidir. Nadiren loplar veya dişler 1-1 veya 1-4 şeklindedir ya da kaliks aktinomorftur. Damarlar 5-20’dir. Korolla gamopetal, zigomorfik ve bilabiat, tüpsü, genellikle üst dudak belirsiz 2 loplu, dik ya da çok az konkav, alt dudak 3 loplu, nadiren alt dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loplu, ya da üstte 1 ve altta 4 loplu, ya da korolla aktinomorfiktir. Stamenler korolla yüzeyine yapışık, 4 ve didinam ya da 2, üstteki çift genellikle alttaki çiftten daha kısa, anter tekaları 2 ya da 1 gözlü, parale ya da divergent, nadiren (*Salvia*’ da) konnektiflerin uzamasıyla birbirinden ayrılmıştır. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 ovüllü, 4 loplu. Stilus ginobazik, nadiren değil, tepede bifid. Meyve 4 (nadiren az) kuru (nadiren etli) [12,13].

1.2 Türkiye’de Yetişen *Sideritis* Cinsinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* Seksiyonlarına Ait Taksonlar

1.2.1 *Sideritis lanata* L.

Sideritis cinsinin *Burgsdorfia* seksiyonunda yer alır. Tek yıllık. Gövde (5-10-30(-60) cm, dallanma genellikle tabanda nadiren gövdede veya basit, sık uzun

beyaz ince yumuşak tüylü ve kısa salgılı tüylü. Yaprak ovat-eliptik, obtus, krenat veya krenat-serrat; petiol 3-20(-30) mm, uzun beyaz ince yumuşak tüylü ve kısa salgılı tüylü; aya 5-40 x 5-20 mm, seyrek uzun yumuşak ince tüylü ve sapsız salgılı tüylü. Vertisillaster 2-6 çiçekli; vertisillaster aralığı alt kısımlarda belirgin, 1-2 cm uzunluğunda, üst kısımlarda belirgin değil ve sıkışık. Brakteler (floral yaprak) yaprağa benzer, ovat-arbicular, \pm sapsız, krenat veya krenat-serrat. Kaliks 5-10 mm sık uzun yumuşak ince tüylü, \pm 2 dudaklı; dişler lanseolat, acüminat, hafifçe geriye kıvrık, üst dişler 2.5-4 mm, alt dişler 1.5-3 mm. Pedisel 0.2-1 mm, dik yada meyvelenmede geriye kıvrık. Korolla krem, lobların ucu morumsu-siyah, 6.8 mm, \pm kalikse eşit, seyrek tüylü. Fındıkçık ovat, açık kahverengi, \pm 2 mm [12].

Çiçeklenme Zamanı: Nisan- Haziran.

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Kültür alanları, kayalık alanlar, step, makilik, şistli topraklar ve *Quercus coccifera* açıklıkları, 0-1650 m.

Türkiye Yayılışı: Marmara, Ege, Akdeniz ve İç Anadolu.

Dünya Yayılışı: Balkanlar ve Türkiye

Fitocoğrafik Bölgesi: Doğu Akdeniz Elementi.

Endemizm Oranı: Endemik değil [14].

1.2.2 *Sideritis romana* L.

Bir yıllık. Gövde (3-)10-35(-50) cm, sürünücü veya yükselici, basit yada tabanda dallı, villoz-lanat ve seyrek salgılı tüylü. Yapraklar ovat, oblong, oblanceolat, eliptik, obtuz veya \pm akut mucronat, krenat-serrat veya bazen düz kenarlı, seyrek veya sık villoz-lanat; aya 8-20(-30) x 2-10(-15) mm, alt yapraklar petiollü, petiol (1-)2-5(-10) mm. Vertisillasterler (2-)4-6 çiçekli, belirgin aralıklı, vertisillaster aralığı 1-4.5 cm. Brakteler (floral yapraklar) gövde yapraklarına benzer fakat genellikle kısa saplı veya sapsız, küçük. Brakteol var veya yok var ise kılçıksız. Pedisel 0.5-2 mm, dik. Kaliks 5-10(-12) mm, tabanda belirgin sakkat veya değil, iki dudaklı, belirgin damarlı yada değil, villoz-lanat ve seyrek küçük salgılı tüylü; dişler genellikle dik, üst diş genişçe ovat, 3-6 mm, içte 3 belirgin damarlı; 4 alt diş triangular-lanseolat, geriye kıvrık veya dik, 2-3 mm, dişler 1-2 mm dikensi kılçıklı.

Korolla beyaz, 6-10 mm, kalikse eşit, seyrek tüylü. Fındıkçık ovat, açık kahverengi, hafifçe rugoz, ± 1.5 mm [12].

1.2.2.1 *Sideritis romana* L. subsp. *romana* L.

Çiçeklenme Zamanı: Nisan-Haziran.

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Kültür alanları, yol kenarları, taşlık alanlar, 5-100 m.

Türkiye Yayılışı: Marmara, Akdeniz.

Dünya Yayılışı: Akdeniz havzası.

Fitocoğrafik Bölgesi: Akdeniz elementi.

Endemizm Durumu: Endemik değil [14].

1.2.3 *Sideritis curvidens* (Stapf)

Çiçeklenme Zamanı: Nisan-Haziran.

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Kültür alanları, Yol kenarları, taşlık alanlar, maki, kalker kayalık, frigana, şistli serpantin, 0-915 m.

Türkiye yayılışı: Akdeniz, Ege.

Dünya Yayılışı: Türkiye, Yunanistan, Kıbrıs, Lübnan.

Fitocoğrafik Bölgesi: Doğu Akdeniz elementi.

Endemizm Durumu: Endemik değil [14].

1.2.4 *Sideritis montana* L.

Hesiodia seksiyonunda yer alır. Tek yıllık. Gövde 10-40 cm, genellikle yükselici, tabanda veya gövdenin orta kısmından dallı, yeşil veya morumsu-kırmızımsı, villoz-lanat, tüyler 1-6 mm boyunda, salgı tüyü yok. Yapraklar oblanceolat, lanseolat, oblong, linear veya eliptik, akut-mucronat veya obtuz, dentikulat-serrat veya bazen düz kenarlı, seyrek veya sık villoz-lanat; aya (5-)15-30(-42) x 2-10 mm, alt yapraklar petiollü, petiol 2-15 mm. Vertisillasterler çok sayıda,

(3-)4-6 çiçekli, vertisillasterler bölgesi yoğun veya seyrek beyaz villoz-lanat, belirgin aralıklı veya üst kısımda sıkışık, vertisillaster aralığı 0.5-3.5 cm. Brakteler gövde yapraklarına benzer fakat genellikle kısa saplı veya sapsız, küçük, uç kısmındaki brakteler sarı veya mor. Pedisel yok veya 0.5-1.5(-2) mm. Kaliks 6-10 mm, \pm aktinomorf, genellikle yeşil veya morumsu kırmızı, villoz-lanat; dişler \pm eşit, tringular-ovat, oblong, 2-3.5 mm, kılçık 0.5-1 mm. Korolla sarı kuruyunca syahımsı-kahverengine döner, 5-7 mm tüylü. Fındıkçık obovat, 1.5-2 x 1-1.5 mm, kahverengi [12].

1.2.4.1 *Sideritis montana* L. subsp. *montana* L.

Çiçeklenme Zamanı: Mayıs-Ağustos.

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Kültür alanları, yol kenarları, step, taşlık alanlar, tuzlu step kumu, silisli yamaçlar, kayalık yerler, serpantin kayalıklar, volkanik tüf yamaçlar, 0-2000 m.

Türkiye Yayılışı: Genel yayılışlı.

Dünya Yayılışı: Türkiye, Avrupa, Güney Batı Asya, Kuzey Afrika.

Fitocoğrafik Bölgesi: Akdeniz Elementi.

Endemizm Durumu: Endemik değil [14].

1.2.4.2 *Sideritis montana* L. subsp. *remota* (d'Urv) P.W.Ball ex Heywood

Çiçeklenme Zamanı: Nisan-Temmuz.

Habitat ve Yetiştirme Yüksekliği: Kültür alanları, yol kenarları, maki, marnlı alanlar, kalker kayalık, 5-2100 m.

Türkiye Yayılışı: Marmara, Batı Karadeniz, İç Anadolu, Akdeniz, Ege.

Dünya Yayılışı: Türkiye, Yunanistan, Ege adaları.

Fitocoğrafik Bölgesi: Doğu Akdeniz elementi.

Endemizm Durumu: Endemik değil [14].

1.3 *Sideritis* L. Cinsinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* Seksiyonlarına Ait Taksonların Kimyasal Özellikleri

Türkiye’de yetişen *Sideritis* türlerinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* seksiyonlarına ait taksonların uçucu yağ ve ana bileşenleri aşağıda tabloda verilmiştir. Tabloda yer almayan 2 adet tek yıllık tür bulunmaktadır. Birincisi *Sideritis romana* L. subsp. *romana*’dır. %0.05 uçucu yağ taşımakta, ancak yağın ana bileşiği fenolik bir monoterpen olan timol (%25) dır [15]. Bu türle daha önce yapılan bir araştırmada fenolik bir monoterpen olan karvakrol (%20) ün anabileşik olduğu bildirilmiştir [16]. Diğer tür ise *Sideritis lanata*’dır ve %0.03 uçucu yağ taşımaktadır. Anabileşiği bir yağ asidi olan hegzadekanolik asit (%11)dir. Ayrıca spatulenol (%10) adlı seskiterpen bulunmaktadır [15].

Çizelge 1 Türkiye’de Yetişen Tek Yıllık *Sideritis* Türlerinin Kimyasal Bileşenleri [17].

<i>Sideritis</i> Türleri	Uçucu Yağ Miktarı %	Ana Bileşik %
<i>S. curvidens</i>	0.02	Bisiklogermakren,21
<i>S. montana</i> subsp. <i>montana</i>	0.05	Bisiklogermakren 11, Germakren D,25
<i>S. montana</i> subsp. <i>remota</i>	0.03	Bisiklogermakren 14, Germakren D,10

1.4 Moleküler Sistemik

Filogeni; organizmaların evrimsel tarihidir. Filogenetik analiz farklı türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılır. Moleküler sistemik çalışmalarında organizmaların evrimsel tarihini açıklamak için DNA ve proteinler kullanılır. Moleküler sistemik çalışmaları DNA ve proteinde oluşan değişikliklerin hızını ve karakterini saptamaya yöneliktir.

Moleküler sistemik incelemelerinde canlılar arasındaki akrabalık derecesini gösterirken elde edilen veriler çeşitli istatistiksel analizlerle filogenetik ağaca dönüştürülür [18].

Filogenetik ağaç hangi taksonların uzak yada yakın akraba olduklarını, türleşme sırasını kaydeder. Ağaç başlıca bir düğüm (node) ve dallardan oluşur. Dallar terminal taksonu bağlayan hattır. Düğümler atasal türü ya da türleri temsil ederler [19]. Filogenetik analiz yapıldıktan sonra köklü ya da köksüz ağaçlar oluşturulabilir. Kök ağaçlarda ortak bir atayı temsil eder ve ağacın herhangi bir yerinde olabilir. Köksüz ağaçlarda ise ortak ata gösterilmez. Burada sadece türler arasındaki ilişki ön plandadır [20].

Moleküler sistematik 4 basamakta gerçekleştirilir:

- Hizalama.
- Substitusyonların saptanması.
- Filogenetik ağaç oluşturma.
- Oluşturulan ağacın değerlendirilmesi.

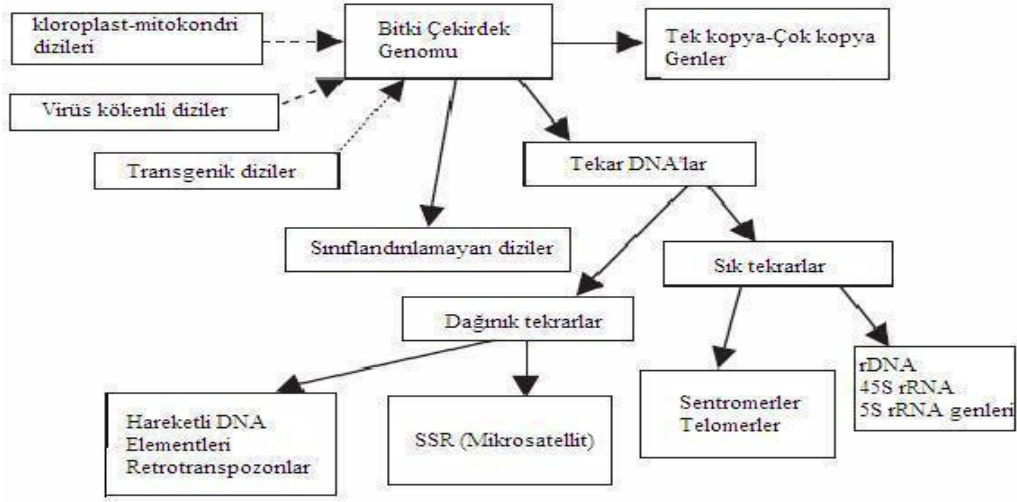
1.4.1 Moleküler Sistematikte Kullanılan DNA Çeşitleri

1.4.1.1 Çekirdek DNA'sının Genel Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı

Çekirdeğin genom büyüklüğü canlılar arasında farklılık gösterir. Bitki çekirdek genomu çok büyük çeşitliliğe sahip bir yapıdır. Bu çeşitliliğin kaynağı ise genlerde meydana gelen; duplikasyon, delesyon, poliploidi ve mutasyonlardır. Genetik sürüklenmede çeşitliliğe sebep olan diğer faktörlerdendir.

Kromozom sayısı ve karyotipteki varyasyonlar bitkilerin incelenmesi açısından oldukça önemlidir [21]. Angiospermiler çok sayıda kromozom içerirler. Diğer bitki türleri az sayıda kromozoma sahip olsalar da genomları büyüktür [22]. Çiçekli bitkilerde genom büyüklüğü kromozom büyüklüğü ile ilgili değildir.

Bitki moleküler sistematik çalışmalarında genomik DNA üzerinde bulunan rRNA'ları kodlayan çekirdek rDNA genleri kullanılmaktadır.



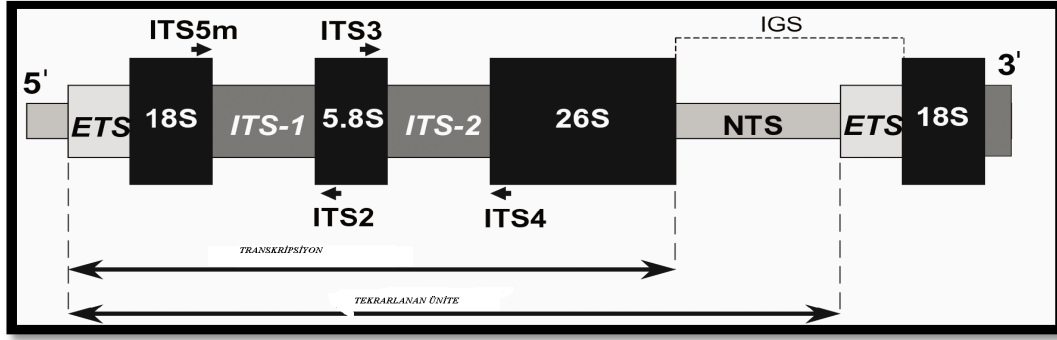
Şekil 1 Bitki Çekirdek Genomunun Bileşenleri [23].

Ökaryotik ribozomal RNA genleri (ribozomal DNA veya rDNA) birbiri ardına gelen dizilerin bir parçası olan tekrarlı üniteler NOR (Nucleolar organizer regions) olarak bilinen kromozom bölgelerinde bulunur. Her tekrarlı ünite transkribe olan ve 18S, 5.8S ve 26S rRNA genlerini içeren bir bölge ve dış transkribe olan boşluk adı verilen ve ETS-1, ETS-2 ve transkribe olmayan bölge non-transcribed spacer (NTS) adı verilen dış transkribe olan bölgeye sahiptir [24, 25].

1.4.1.1.1 İç Transkribe Olan Boşluklar (Internal Transcribed Spacers, ITS)

İç transkribe olan boşluk (ITS) sistematik çalışmalarda cins ve tür seviyesinde çok sık kullanılan moleküler markırlardandır. ITS-1 ve ITS-2 adı verilen boşluklar 18S, 5.8S ve 26S korunmuş bölgelerinin arasında bulunmaktadır. ITS-1 ve ITS-2 bölgeleri 300 baz uzunluğunda, 5.8S geni ise 163-164 baz uzunluğundadır. Böylece ITS bölgesinin uzunluğu yaklaşık 700 baz kadardır [26].

ITS-1 ve ITS-2 bölgelerinin filogenetik açıdan sundukları veriler farklıdır. ITS-1 verileri ITS-2'ye nazaran daha fazla çözüm sunmaktadır ve ITS-2'ye nazaran nükleotid içeriği %29 daha değişkendir [27].



Şekil 2 Çekirdek Ribozomal DNA'sının Tekrarlı Üniteleri [28].

ITS; filogenetik çalışmalarda yeterli veri sunabilecek kadar uzunluğa sahip olması, PCR ile kolaylıkla çoğaltılabilir olması, rDNA bölgelerine göre nükleotid değişim hızının yüksek olması, cins ve tür seviyelerindeki filogenetik çalışmalarda açıklayıcı olması, yüksek kopya sayısına sahip olması gibi özellikle sahip olması bakımından filogenetik çalışmalarda oldukça kullanılmaktadır.

1.4.1.2 Mitokondriyal DNA'nın Genel Özellikleri ve Sistematikte Kullanımı

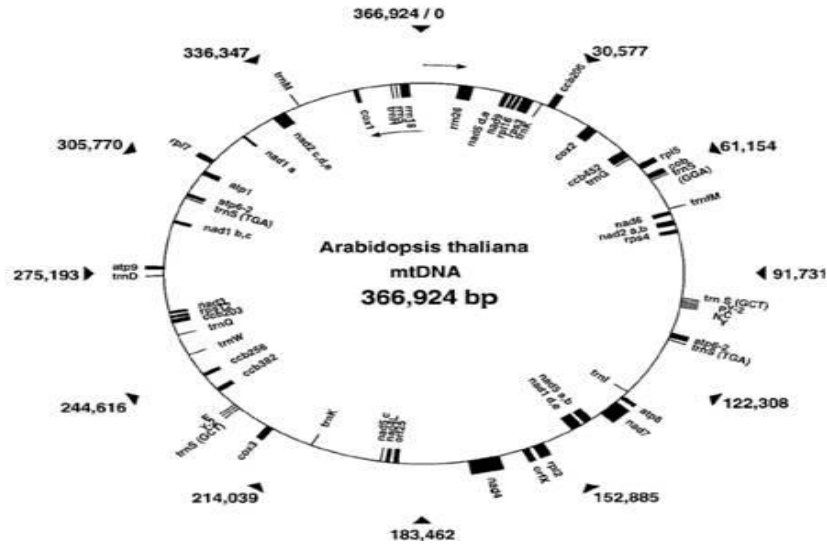
Oksijenli solunum yapan ökaryotik hücrelerde bulunurlar. Memelilerin alyuvarlarında ve prokaryotlarda bulunmazlar. Dış ve iç zar olmak üzere iki zar ile çevrelenmiştir. Dış zarın yapısının düzgün olmasının yanında iç zar kıvrımlı bir yapıya sahiptir. Mitokondrinin matriksinde çeşitli enzimler, ribozomlar, RNA ve DNA bulunur bu da mitokondriyi bazı organellerden ayırır [29].

Mitokondri içerisinde lokalize olmuş olan mitokondriyal DNA (mt DNA), halkasal DNA molekülüdür [30]. Mitokondri günümüzden 1.5-2 milyar yıl önce ortaya çıkmıştır ve genlerinin büyük bir kısmını hücrenin çekirdeğine aktarmıştır [31].

Mitokondri yüzlerce protein içermektedir [32]. mtDNA 12S ve 16S ribozomal RNAlar ile 22 adet tRNA ve 13 adet polipeptit kodlar ve bunların hepsi oksidatif fosforilasyonun mitokondriyal enerji üreten enzimleri içindedir [33-35].

Bitki mtDNAlarının diğer organizmaların mitokondrilerinden farklı olmasının başlıca sebepleri:

- Bitki mtDNAları diğer organizmaların mitokondrilerinden çok daha büyük ve çeşitlidir.
- Çok sayıda yabancı DNA dizileri bitki mitokondrilerinde bulunmaktadır.
- Kararsız ekstra kromozomal plastidler genellikle bitki mtDNA'sında bulunur.
- Nükleotid değişim hızı yavaştır.
- Kısa serpilmiş tekrar dizileri bulunur [36].



Kloroplast genomu fonksiyonel olarak 3 gruba ayrılır.

- a) Kodlama yapmayan bölgeler
- b) Protein kodlayan bölgeler
- c) İtronlar [40].

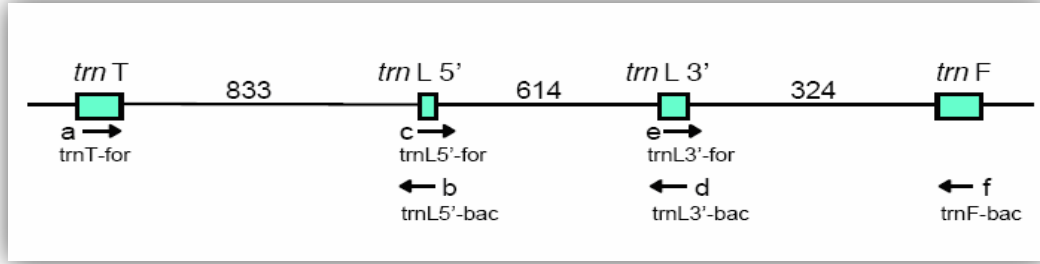
Protein kodlayan bölgelerde iki gruba ayrılır. Birincisi kloroplastın kendi işleyişindeki genler ikincisi ise bioenerjistik ve fotosentetik işlerde görevli genler [41].

Bitki filogenetik çalışmalarında kloroplastın kullanılmasının sebeplerini ise şu şekilde sıralayabiliriz: cpDNA'sının yapısal kararlılığı, haploid (n) olması, genelde uniperantal aktarılması, rekombinant olmamasıdır [38]. Kodlanmayan bölgeleri çok fazla içermediği için çekirdek genomuna göre daha yavaş bir değişim göstermektedir [42,43].

cpDNA'sında bitki filogenetik çalışmalarında; ribuloz bifosfatkarboksilaz / oksijenaz (RUBISCO) genini büyük fragmenti *rbcL*, kloroplast genomunda small single copy (SSC) ve inverted repeat (IR) bölgelerinin arasında yer alan *ndhF* ve genler arası boşluk (intergenic spacer) *trnL-F* bölgeleri kullanılabilir.

1.4.1.3.1 Genler Arası Boşluk (*trnL-trnF*)

Genler arası boşluk *trnL* (UAA) 3' ekzonu ve *trnF* (GAA) geni arasında yer alır. Kloroplast genomunun kodlama yapmayan bölgelerindendir ve filogenetik çalışmalarda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [44-46]. Bu bölgenin *rbcL*'e göre evrimleşme hızı 3 kat daha fazladır. Genler arası boşluk çok kolay bir şekilde çoğaltılıp, dizilenebilmektedir [44]. Monokotil ve dikotillerde *trnL-trnF* boşluğunun nükleotid sayısı 120-350bp arasındadır.



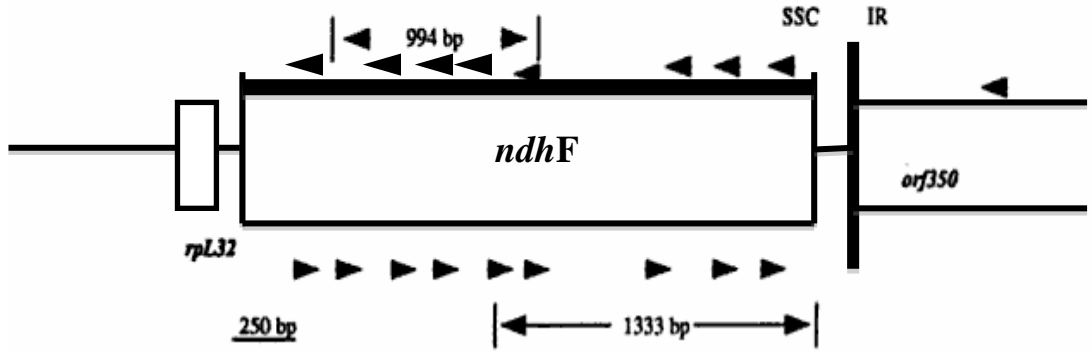
Şekil 4 tRNA Genleri ve Kodlama Yapmayan Bölgenin Şematik Gösterimi [44].

1.4.1.3.2 *ndhF* Geni

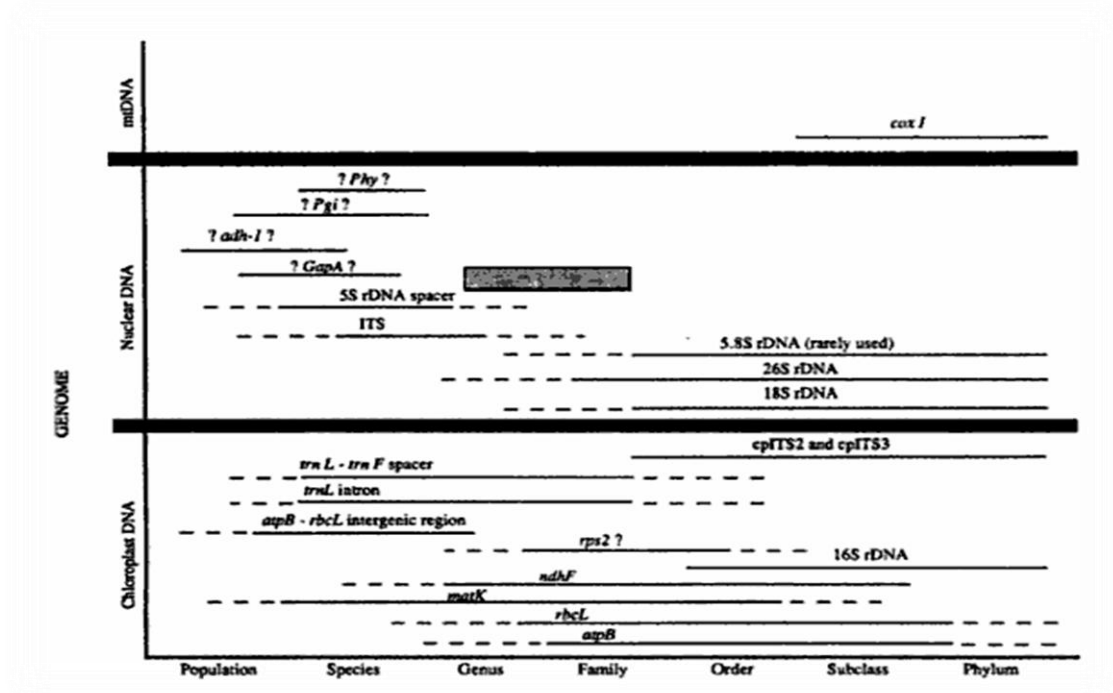
ndhF geni small single copy (SSC) ile inverted repeat (IR) arasında yer almaktadır. Tütün üzerinde yapılan çalışmalarda *ndhF* geni 2,233 bp uzunluğunda bu yüzden *rbcL*'den yaklaşık 1.5 kat daha uzun. *ndhF* geni kloroplastın alt ünitesi olan NADH dehidrogenaz proteinini kodlar [47,48]. Pirinç ve tütündeki *ndhF* genini *rbcL* geni ile karşılaştırdığımızda *ndhF* genindeki nükleotid değişim oranının yaklaşık 2 kat daha fazla olduğunu görüyoruz [48].

Yapılan çalışmalarda *ndhF* 2 tane farklı bölge içermektedir [47]. Genin 5' bölgesi (1,380 bp) *rbcL*'e benzer ve aynı oranda substitusyon içerir. Fakat buna zıt olarak *ndhF*'in 3' bölgesi (855 bp) A+T oranıyla daha zengin, sinonim olmayan baz değişimleri daha çok ve bütün kodonda transversiyon sapmalarını çok güzel göstermektedir [47].

ndhF geninin akrabalık derecesini çözümlenmede bazı angiosperm familyalarında faydalı olduğu kanıtlanmıştır örneğin Acanthaceae [49], Solanaceae [50], Scrophulariaceae [48], Asteraceae [47], Orchidaceae [51] ve Poaceae [52]. Bu familyalar için *ndhF*'e dayalı oluşturulan ağaçlar *rbcL*'e göre oluşturulan ağaçlara göre daha bilgi verici daha çözümlenicidir [47].



Şekil 5 Tütündeki Kloroplast DNA'sında Bulunan *ndhF* Bölgesinin Haritası [48].



Şekil 6 Angiospermlerde Kloroplast, Mitokondri ve Çekirdek DNA Bölgelerinin Çeşitli Taksonomik Seviyelerdeki Kullanımı [47].

1.4.2 Moleküler Sistematikte Kullanılan Yöntemler

1.4.2.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Hibridizasyona dayalı moleküler belirteçlerdendir. RFLP, ilk DNA belirteçlerindendir [53]. Dokulardan izole edilen gDNA'nın nükleik asit dizilişlerini

tanıyan restriksiyon enzimlerince kesilmesi esasına dayanır. DNA parçalarının büyüklük esasına göre agaroz ya da poliakrilamid jel elektroforezinde ayrılır. DNA parçaları elektroforezde ayrıldıktan sonra jelde uygun bir boyama tekniğiyle görünür hale gelir. Daha sonra naylon ya da nitroselüloz membrana transfer edilerek DNA problemleriyle etiketlenir. Parçalarla probun hibridizasyonu otoradyografi yöntemi ile açığa çıkartılır [54,55].

RFLP yönteminin avantajları:

- a) Güvenilirdir.
- b) Kodominant özellik gösterirler bu yüzden heterozigotların belirlenmesinde kullanılabilir.
- c) Polimorfizm oranı orta düzeydedir.
- d) Bir türde RFLP belirteci bir kez haritalandığında akraba pek çok tür için o haritalama bölgesinde potansiyel bir belirteç belirlenmiş olur [56].

RFLP yönteminin dezavantajları:

- a) Analizler pahalı ve zaman alıcıdır.
- b) Yüksek iş gücü gerektirmektedir.
- c) Fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya ihtiyaç vardır [57].

1.4.2.2 RADP (Randomly Amplified Polimorphic DNA)

RAPD ilk defa 1990'da rastgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonunu (PCR) temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır [58]. RAPD amplifikasyonu PCR temelli bir reaksiyondur. Kullanılan DNA ise gDNA'dır. RAPD yönteminin temel prensibi ilgili olan türe ait gDNA üzerinde rastgele seçilmiş, tek bir 9-10 bp oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Tekniğin devamında elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve çoğaltma ürünleri bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir [58,59].

RAPD tekniğinin avantajı:

- a) İlgilenilen lokusun genleriyle ilgili herhangi bit ön bilgi gerekmektedir [58-61].
- b) Çoğaltmada tüm organizmalar için aynı oligonükleotid primer seti kullanılabilir ve bu oligonükleotidler özgün bölgelere rastgele bağlanarak çoğaltma yapmaktadır [58, 59, 60, 62].
- c) Zaman ve maliyet yönünden uygun [63,64].
- d) Az miktarda kalıp DNA gerektirir [63, 65, 66].
- e) Kullanılan primer sayısı arttıkça elde edilen bant sayısı da artacağından, yakın türleri ayırma konusunda duyarlı bir yöntemdir.
- f) Polimorfizm derecesi yüksektir [65, 67].

Tekniğin avantajlarıyla birlikte metodun sınırlılıkları da vardır. RADP kullanım açısından kolay olmasına karşılık, belirteçleri dominanttır ve heterozigotların tespiti zordur [68]. Çalışmalar sonunda verilerin tekrarlanabilirliği, reaksiyona giren tüm değişkenlere bağlı olduğundan düşüktür. Bu yüzden analizlerden önce yöntem optimize edilmesi gerekir [69, 70].

1.4.2.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP tekniği, RFLP tekniğinin güvenilirliğinin PCR tekniğinin katılmasıyla oluşturulan bir yöntemdir. AFLP tekniği, DNA'nın restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ve biotinle işaretlenmiş 2 adaptör kullanılarak restriksiyon fragmentlerinin uygun bir DNA ligaz ile birleştirilmesi, restriksiyon fragmanlarına adaptörlerin bağlanmasıyla oluşan uygun dizilere primerlerin bağlanması ve restriksiyon fragmanlarının seçici amplifikasyonu basamaklarından oluşur [71]. AFLP tekniği bitkilerde genetik haritalama ve DNA parmak izi çalışmalarında kullanılmaktadır [54].

AFLP yönteminin avantajları:

- a) Polimorfizm oranı yüksektir.

- b) Çok sayıda ve aynı anda tarama yapılabilir bu yüzden parmak izi analizlerine uygundur.
- c) RFLP'den hızlı, RADP'den yavaştır.
- d) DNA'da ilgilenilen bölgeyle ilgili ön bilgiye ihtiyaç yoktur [72].

AFLP yönteminin dezavantajları:

- a) Çoğunlukla dominant markır verirler.
- b) Pahalı bir tekniktir.
- c) Fazla miktarda ve saf DNA'ya gereksinim duyar [72].

1.4.2.4 SSR (Simple Sequence Repeats)

Yüksek organizmalar görevleri henüz tam olarak bilinmeyen ancak düzenleyici oldukları düşünülen 2-6 nükleotid gruplarından oluşan bölgelerdir. Basit dizi tekrarları (SSR) mikrosatellit olarak da bilinmektedir.

SSR'in avantajları: polimorfizm oranı yüksektir, hızlı bir şekilde teknik gerçekleştirilebilir [73]. SSR'in dezavantajları ise pahalı olması, uzmanlık gerektirmesi ve zaman alıcı olmasıdır [74].

1.4.2.5 VNTR (Variable Number Tandem Repeat)

VNTR'ler minisatellit olarak da adlandırılırlar ve 9-100 baz çiftinden oluşur [75]. VNTR bölgeleri birçok yüksek ökaryotik canlıların genomlarında mevcuttur ve çok fazla değişkenlik gösterirler [76]. VNTR polimorfizminde; insersiyon, inversiyon, delesyon ve duplikasyon gibi bir çok genetik mekanizma rol oynar. Replikasyon kayması veya polimorfizm kayması denilen replikasyon hataları da polimorfizmde rol oynar [77,78].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri

Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin çoğunluğu Prof. Dr. Hayri Duman tarafından çeşitli lokalitelerden toplanmış, bazıları da Prof. Dr. Gülendam Tümen, Yrd. Doç. Dr. Fatih Coşkun ve Yrd. Doç. Dr. Ekrem Akçiçek tarafından toplanmıştır. Taze bitki materyalleri araziden toplandıktan sonra silika jel içerisinde saklama poşetlerinde saklanmıştır. Toplanan 5 taksonun isimleri aşağıda verilmiştir. Toplanan bitki örneklerinin lokaliteleri bulgular kısmında çizelge 9'da verilmiştir.

- *Sideritis lanata* L.
- *Sideritis romana* L. subsp. *romana*
- *Sideritis curvidens*
- *Sideritis montana* subsp. *montana*
- *Sideritis montana* subsp. *remota*
- *Stachys* ssp.
- *Marrubium* ssp.

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Merck ve Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Moleküler biyoloji materyalleri Applichem, Biolabs, Stratagene ve Fermentas firmalarından yerli kuruluşlar aracılığıyla temin edilmiştir.

2.1.2.1 Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

2.1.2.1.1 Fenol/Kloroform/İzoamilalkol İle Yapılan DNA İzolasyonu Kimyasalları

Bu çalışmada kullanılan bitki materyallerinin gDNA'sı Dellaporta ve arkadaşları [79] tarafından geliştirilen ve modifiye edilen yöntemle izole edilmiştir. İzolasyon için kullanılan tüm kimyasallar aşağıda gösterilmiştir.

Çizelge 2 Fenol/Kloroform/İzoamil Alkol MetoduylaYapılan DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar.

Çözelti	Kompozisyonu
Ekstraksiyon Tamponu (1L)	33,6 gr Üre 0,5 M EDTA (pH: 8) 1 M Tris-HCl (pH:8) 5 M NaCl % 10 SDS
Fenol/Kloroform/İzoamil Alkol	25 : 24 : 1
NaAc	3 M pH : 5,2
İzopropil Alkol	% 100
TE (Tris-EDTA)	10 mM
RNaz A	10 mg / mL
Etanol (EtOH)	% 70'lik ve % 100 lük

2.1.2.1.2 SIGMA Kiti İle yapılan İzolasyonda Kullanılan Kimyasallar

Bitki örneklerimizin genomik DNA'sı SIGMA G2N70 Plant Genomic DNA Miniprep Kit ile izole edilmiştir. Kit ile birlikte gelen hazır solusyonlar ise şunlardır: Lysis Solution Part A, Lysis Solution Part B, Precipitation Solution, Binding Solution, Column Preparation Solution, Wash Solution Concentrate, Elution Solution (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH approx. 8.0).

2.1.2.1.3 PZR'de (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar

PZR'de kullanılan primerler Integrated DNA Technologies (IDT A.B.D.) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılan primerlerin DNA dizileri, erime sıcaklıkları (T_m) Çizelge 3'te verilmiştir. PZR'de kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3 PZR'de Kullanılan Primerler ve Özellikleri.

Primer	Nükleotid Dizisi	T _m Değeri
ITS-4	CCTTATCATTAGAGGAAGGAG	52.1 °C
ITS-5A	TCCTCCGCTTATTGATATGC	49.9 °C
<i>ndhF2110R</i>	CCCCCTA(CT)ATATTTGATACCTTCTCC	55.2 °C
<i>ndhF1318F</i>	GGATTAAC(CT)GCATTTTATATGTTTCG	52.2 °C
<i>trnLf</i>	ATTTGAACTGGTGACACGAG	52.8 °C
<i>trnLe</i>	GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	54.4 °C

Çizelge 4 PZR'de Kullanılan Kimyasallar.

Kimyasalın Adı	Miktarı	Konsantrasyon
dH ₂ O	10.8 µl	–
Tampon	2.5 µl	10X
DMSO	2.5 µl	–
ITS4/ <i>trnLe</i> / <i>ndhF2110R</i>	2.5 µl	pmol/ml
ITS5/ <i>trnLf</i> / <i>ndhF1318F</i>	2.5 µl	pmol/ml
MgCl ₂	1.5 µl	25 mM
dNTP	0.4 µl	10 mM
Taq DNA Polimeraz	0.3 µl	5 ünite
gDNA	2 µl	
Toplam	25µl	

2.1.2.1.4 Agaroz Jel Elektroforez Tamponları

Agaroz jel elektroforezinde 0.5'lik TBE kullanılır. Bunun için hazırlanan stok solüsyon olan 5X'lik TBE seyreltilir. 5X TBE için kullanılan kimyasallar Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5 5X TBE Tamponunda Kullanılan Kimyasallar.

Kimyasalın Adı	Miktarı
Tris -Base	54 g
Borik asit	27.5 g
0.5M pH:8 EDTA	20 ml
Saf Su	Üzeri 1 L'ye tamamlanır

2.2 Yöntem

2.2.1 Genomik DNA İzolasyon Yöntemi

2.2.1.1 Fenol/Kloroform/İzoamilalkol Protokolü

Silika jel içerisindeki taze bitki örneklerinden 100mg tartılarak havana alınır. Havana sıvı azot ilave edilir ve yapraklar toz haline getirilene kadar dövülür. Toz haline getirilen bitkiler eppendorf tüplerine alınır. 600 µl ekstraksiyon(izolasyon) tamponu eklenerek çözülür. Vortex yapılır. Üzerine 500µl fenol-kloroform-izoamilalkol eklenir(dipten alınacak). 5dk alt-üst edilir. 12000 rpm'de 5 dk santrifüj yapılır. Proteinler dibeye çöker, DNA üstte kalır. Oluşan süpernatant(500µl) temiz bir tüpe aktarılır. Üstteki süpernatant hacminin %10'u kadar (50 µl) 3M NaAc(pH=5.2) eklenir. Alt-üst edilir. Süpernatant hacmi kadar (500 µl) izopropanol eklenir. Bu aşamada DNA çıplak gözle görülür. 2 dk 12000 rpm'de santrifüj yapılarak çöktürülür. Dipte pellet oluşur ve üstteki çözelti atık şişeye konulur. Oluşan pellete 500 µl TE (10mM, pH=8) eklenir. Pellete dokunmadan pipetajla çözülmesi sağlanır. 5 µl RNaz A (10mg/ml) eklenir ve alt-üst edilir. Pipetaj yapılır yağsı tabaka homejen hale getirilir. 30 dk 37 °C'de inkübe edilerek RNA'nın uzaklaştırılır. 50 µl NaAc (3M) eklenir ve alt-üst edilir. 1 ml %90'lık ETOH eklenip alt-üst edilir. -80 °C'de 10 dk bekletilir. 10 dk 13000 rpm'de santrifüj edilerek DNA'nın çökmesi sağlanır. Etanol boşaltılır. Üstteki süpernatant çöpe atılır, altta pellet kalır. Kalan çökelti %70'lik ETOH ile pipetaj yapılarak yıkanır. 2 dk 12000 rpm'de santrifüj yapılır. Oluşan çökeltiden etanol dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra 20-30sn 12000rpm'de santrifüj yapılır. Eppendorf tüpler kağıt üzerine yan yatırılır etanol kalıntılarının

uçması beklenir. Oluşan genomik DNA çökeltisi, 50 µl TE veya 200 µl saf su eklenerek pellet kayboluncaya kadar özölür ve DNA kullanıma hazır hale gelir.

2.2.1.2 SIGMA Kiti ile Yapılan DNA İzolasyon Protokolü

Bitki materyallerinden 100mg alınır ve havanda sıvı azotla toz haline getirilir. 350µl Lysis Solution (Part A) ve 50µl Lysis Solution (Part B) eklenir. Vortex yapılır. 4µl RNaz pipetaj yapılarak eklenir. 65°C’de 10dk su banyosunda bekletilir. 130µl Precipitation Solution eklenir. 5dk buzda bekletilir 5dk maksimum hızda (16000g) santrifüj yapılır. Sıvı kısım alınır ve mavi filtreli tüpe aktarılır. ökelti atılır. 1dk maksimum hızda santrifüj edilir. Kolon atılır, collection tüp kalır. 700µl Binding Solution eklenir. Toplam sıvı 1000µl civarındadır. Binding kolonu hazırlama: Kırmızı kolonlu tüpler alınır. Her birine 500µl Column Preparation Solution eklenir. 1dk 12000g’de santrifüj yapılır. Sıvı atılır ve böylece kolonumuz hazır hale gelir. 7.basamaktaki karışımın bir kısmı kırmızı kolonlu tüpe aktarılır (örn: 700µl) . Maksimum hızda 1dk santrifüj yapılır. Sıvı atılır, collection tüp kalır. Kırmızı kolon collection tüpe yeniden konur. 7.basamaktan geriye kalan karışım(örn:300µl) kolondan geçirilir. Maksimum hızda 1dk santrifüj yapılır. Sıvı ve collection tüp atılır. Kolon yeni bir collection tüpe yıkanması için konur. 500µl Wash Solution eklenir ve maksimum hızda 1dk santrifüj yapılır. Sıvı atılır, collection tüp kalır. 500µl Wash Solution eklenir ve maksimum hızda 3dk santrifüj yapılır. Sıvı, kolona temas ettirilmeden atılır. Yeni 2ml’lik collection tüp çıkarılır ve içine kolon yerleştirilir. 100µl Elution Solution (Kullanmadan önce 65°C’de ısıtılır) eklenir. Max hızda 1dk santrifüj yapılır. Kolon sıvıya temas etmeden çıkarılır. Böylelikle 1. Solüsyon hazır hale gelmiş olur. Yeni 2ml’lik tüp hazırlanır. Kolon bu tüpe yerleştirilir. 100µl Elution Solution (kullanmadan önce 65°C’de ısıtılır) eklenir. Max hızda 1dk santrifüj yapılır. Kolon sıvıya temas etmeden çıkarılır ve atılır. 2. Solüsyon da hazır hale gelir.

2.2.2 DNA Saflık ve Miktar Tayini

İzole edilen genomik DNA'larının 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri UV spektrometrede ölçülmüştür. Ölçümler için kuvars küvetler kullanılmıştır. gDNA örneklerinde fenol, protein gibi kontaminantlar ne kadar az olursa spektrometrik ölçüm okadar doğru olur. Nükleik asitlerin maksimum absorbans değeri A260'dır. Proteinlerin maksimum absorbans verdiği dalga boyu ise A280'dir. Aromatik bileşiklerin, fenolün ve karbonhidratların absorbans değeri ise A230'dur. Nükleik asitlerin saflık değeri hesaplanırken OD260/OD280 oranı kullanılır. Saf bir gDNA için bu oran 1.8-2 arasında olmalıdır.

DNA Konsantrasyonu(ng/μl) = Absorbans değeri (A260) x Seyreltme Katsayısı x 50ng/μl

2.2.3 Kullanılan PZR Protokolü

PZR toplam reaksiyon hacmi 25μl olacak şekilde hazırlandı. PZR komponentleri Çizelge 4'teki miktarlarda 200 μl'lik tüplere konulmuştur. Karışıma en son enzim eklendi ve çalışma esnasında PZR komponentleri buz üzerinde muhafaza edildi.

Çizelge 6 ITS Primeri İçin Kullanılan PZR Programı.

Basamak	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	5dk	1 döngü
Denatürasyon	94°C	45sn	35 döngü
Annealing	53°C	45sn	
Extension	72°C	2dk	
Final Extension	72°C	10dk	1 döngü
Final Hold	4°C	25sa	

Çizelge 7 *ndhF* Primeri için Kullanılan PZR Programı.

Basamak	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	5dk	1 döngü
Denatürasyon	94°C	30sn	35 döngü
Annealing	49°C	45sn	
Extension	72°C	1dk	
Final Extension	72°C	10dk	1 döngü
Final Hold	4°C	25sa	

Çizelge 8 *trnL-F* Primeri İçin Kullanılan PZR Programı.

Basamak	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	94°C	5dk	1 döngü
Denatürasyon	94°C	30sn	35 döngü
Annealing	52°C	45sn	
Extension	72°C	1dk	
Final Extension	72°C	10dk	1 döngü
Final Hold	4°C	25sa	

2.2.4 Agaroz Jel Elektroforezi

PZR sonucu oluşan bantları gözlemleyebilmek için %0.8'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için 0.8 g agaroz tartıldı ve 100ml 0.5 X TBE tamponu içinde, mikrodalga fırında kaynatıldı. Karışım soğutulurken içerisine 1µl EtBr eklendi ve hazırlanan tampon tarakları önceden yerleştirilmiş jel kasedi içerisine dökülür ve polimerleşmesi beklenir. Polimerleştikten sonra tanka konular üzeri biraz geçinceye kadar 0.5 X TBE eklenir ve jeldeki kuyucuklara 2 µl yükleme boyası (6X DNA loading dye), 2 µl PCR ürünü ve 2 µl saf su yüklendi. PZR ürününün büyüklüğünü öğrenebilmek için 5 µl DNA markırı (1kb DNA ladder yüklenir. Örnekler 100 voltta

45 dk yürütüldü. Daha sonra jel görüntüleme cihazında bir bilgisayar programı yardımıyla jelin fotoğrafı çekilip kaydedildi.

2.2.5 Dizi Analizi

Çeşitli primerler kullanılarak çoğaltılan bölgelerin DNA dizilerini elde etmek için refgen ve İYTE'ye gönderildi. Dizilerin işlenmesi için ücretli olan Sequencher 4.10.1 bilgisayar programı kullanıldı. DNA dizileri bu programda işlenerek consensus dizileri oluşturuldu. Oluşturulan consensus dizileri word'e kopyalandı fasta formatına getirilerek dizi hizalanması için hazır hale getirildi. Dizi hizalanması için internet üzerinden ücretsiz olan kullanılabilen ClustalW programı kullanıldı. Word'e kopyalanan fasta formatındaki diziler ClustalW programında uygun yere yapıştırıldı ve uygun komutlar verilerek dizi hizalanması gerçekleştirildi.

2.2.6 Filogenetik Analiz

Dizi hizalaması ClustalW programında yapıldıktan sonra hizalanan dizileri nexus formatına getirilir ve yaygın bir kullanıma sahip olan PAUP 4.0b10 yazılımının uygun parametreleri kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturuldu. Ağaç oluşturmada mesafe temelli yöntemlerden UPGMA ve NJ metodlarıyla fenetik analizler yapıldı ve karakter temelli yöntemlerden Maksimum Parsimonu metodu kullanılarak consensus ağaçları oluşturuldu.

3. BULGULAR

3.1 *Sideritis* Cinsinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* Seksiyonlarına Ait Taksonların Morfolojik Karakterlere Dayalı Taksonomi Anahtarı

1-Bitki tek yıllık

2-Kaliks ± 2 dudaklı, üst diş 4 alt diştten daha büyük ve geniş

3-Bitki sık uzun beyaz viloz tüylü; üst kaliks dişi dar lanseolat; korolla tüpü beyaz, loblar siyahımsı-mor.....**1.lanata**

3-Bitki kısa ve seyrek tüylü ; üst kaliks dişi ovat; korolla beyaz.. **2.romana**

2-Kaliks \pm aktinomorf; dişler \pm eşit

4-Yaprak ovat-eliptik, 5-25mm genişliğinde, krenat, korolla tüpü beyaz loblar siyahımsı-mor.....**1.lanata**

4-Yaprak linear-lanseolat veya oblong, 2-10 mm genişliğinde, kenarı düz veya üstte dentikulat-serrat; korolla sarı kuruyunca kahverengiye döner...**3.montana**

3.2 Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalleri ve Lokaliteleri

Çizelge 9 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri.

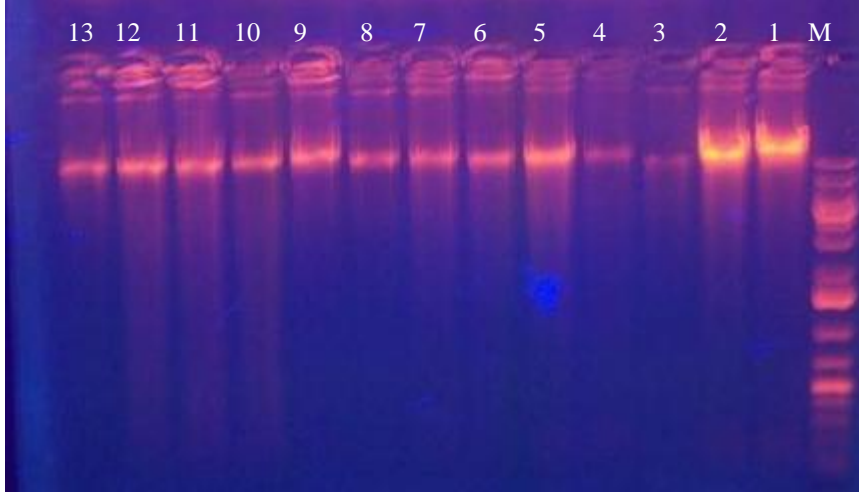
Herbaryum numarası	Türü	Toplandığı Lokalite	Toplandığı Yükseklik	Toplayan	Toplandığı Tarih
HD 10176	<i>Sideritis montana</i> L.subsp. <i>montana</i>	B6Sivas:Doğanşar, DoğanşarSivasyolu	1200-1250 km.	Hayri DUMAN	05.06.2010
HD 10174	<i>Sideritis montana</i> L. subsp. <i>remota</i>	C3 Burdur: Burdur- Isparta yolu 2 km. marnlı step	1030 m.	Hayri DUMAN	02.05.2010
FC 0101	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	Erdek: Seyitgazi türbesi civarı kayalar üzerinde	60 m.	Fatih COŞKUN	08.07.2010

Çizelge 9'un Devamı

HD 9935	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i>	B4 Konya: Çumra-Hadim yolu, Çiçekköy çevresi, meşelik	1150-1200 m.	Hayri DUMAN	16.5.2009
HD 7108	<i>Sideritis lanata</i>	Manisa Kula Uşak yolu	106m.	Hayri DUMAN	
HD 10188	<i>Sideritis lanata</i> L.	B2 Uşak: Eşme, Kışladağı,metamorfik alan, maki,	1000-1100m.	Hayri DUMAN	13.06.2010
HD 7123	<i>Sideritis curvidens</i>	İzmir Gümüldür		Hayri DUMAN	
HD 9901	<i>Sideritis curvidens</i>	C3 Antalya: Kaş, Kekova. Çevreli-Kapaklı arası, maki açıklığı	120 m.	Hayri DUMAN	28.4.2009
FC 0100	<i>Sideritis curvidens</i>	Erdek: limanın batısındaki tepe, askeri kampın yanı, Seyitgazi türbesi civari kayaların arası	50-60m.	Fatih COŞKUN	08.07.2010
FC 0103	<i>Sideritis romana</i> subsp. <i>romana</i>	A2: İstanbul : Beykoz Şahinkaya belediye otobüs garajı üstü güneybatı yamacı	105 m.	Fatih COŞKUN	12.07.2010
HD 7251	<i>Sideritis romana</i> subsp. <i>romana</i>			Hayri DUMAN	
FC02	<i>Marrubium</i> ssp	B6 Sivas: Zarahıranlı yolu kenarı, , 13. km, mezarlık alanı, şistli alan		Fatih COŞKUN	
FC01	<i>Stachys</i> ssp			Fatih COŞKUN	
HD 10095	<i>Sideritis albiflora</i>	C2 Antalya: Kaş, Kaş çevresi maki açıklığı	100 m.	Hayri DUMAN	24.6.2009
HD 10048	<i>Sideritis gulendamae</i>	B3 Eskişehir: Sivrihisar-Afyonkarahisar yolu, Aşağıkepen köyü güneyi, marnlı step	950-980 m.	Hayri DUMAN	19.7.2009
EA5324	<i>Sideritis libanotica</i> Labill. subsp. <i>libanotica</i>	C6 Hatay: YAYLADAĞ Yeditepe köyü, orman alanı	444m.	Ekrem AKÇİÇEK	20.7.2009
HD 10090	<i>Sideritis vuralii</i>	C4 İçel: Gülnar Ermenek yolu 30. km, Kalker kayalık, açık alanlar	1320 m.	Hayri DUMAN	24.7.2009
HD 10091	<i>Sideritis brevidens</i>	C4 İçel: Gülnar, Gülnar Mut yolu 2.km, Pinus brutia açıklığı, kalker taşlık alanlar,	1040 m.	Hayri DUMAN	24.7.2009

3.3 DNA İzolasyonu

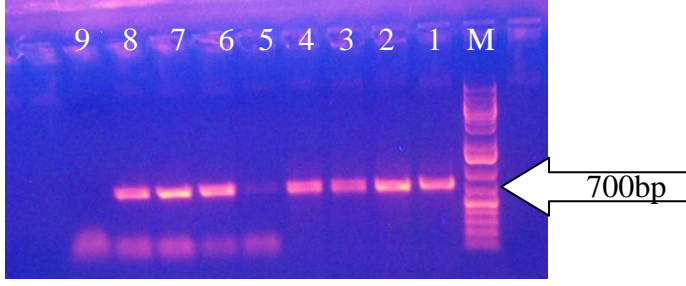
Bitki örneklerinin genomik DNA'larının izolasyonu hem ticari kit olan SIGMA hem de Dellaporta ve arkadaşlarının geliştirdiği Fenol/Kloroform protokolleri uygulanmıştır. Jel görüntüleri Şekil 7'de gösterilmiştir.



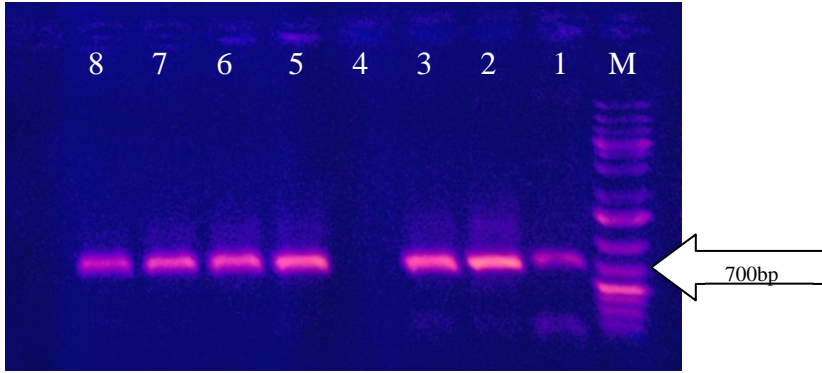
Şekil 7 Bazı *Sideritis* Türlerinin gDNA İzolasyonuna Ait Jel Fotoğrafı. (M: Marker, 1: *Sideritis curvidens* HD7123, 2: *Sideritis curvidens* FC0100, 3: *Sideritis curvidens* HD9901, 4: *Sideritis romana* subsp. *romana* HD7251, 5: *Sideritis romana* subsp. *romana* FC0103, 6: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD9935, 7: *Sideritis montana* subsp. *remota* FC0101, 8: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD10176, 9: *Sideritis galatica* HD10047, 10: *Sideritis vuralii* HD10090, 11: *Sideritis libanotica* subsp. *libanotica* EA5324, 12: *Sideritis albiflora* HD10095, 13: *Marrubium* ssp.)

3.4 PZR Amplifikasyonu

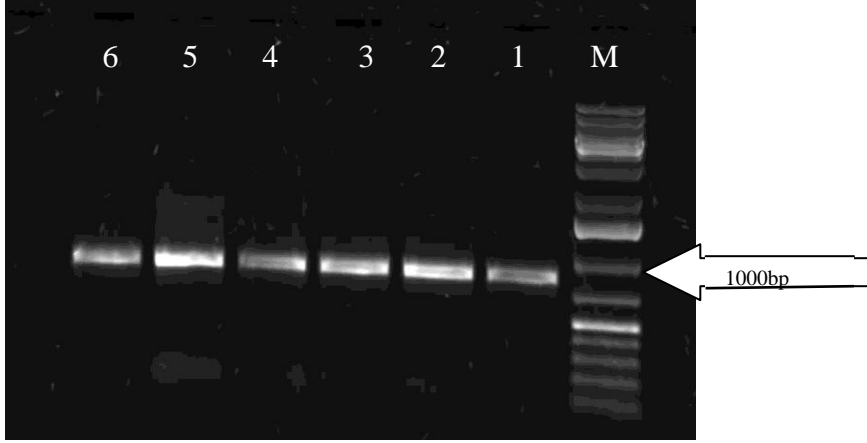
PZR amplifikasyonu ile ITS, *trnL-F* ve *ndhF* bölgeleri çoğaltılmış olup elde edilen bant profilleri şekillerle aşağıda gösterilmiştir.



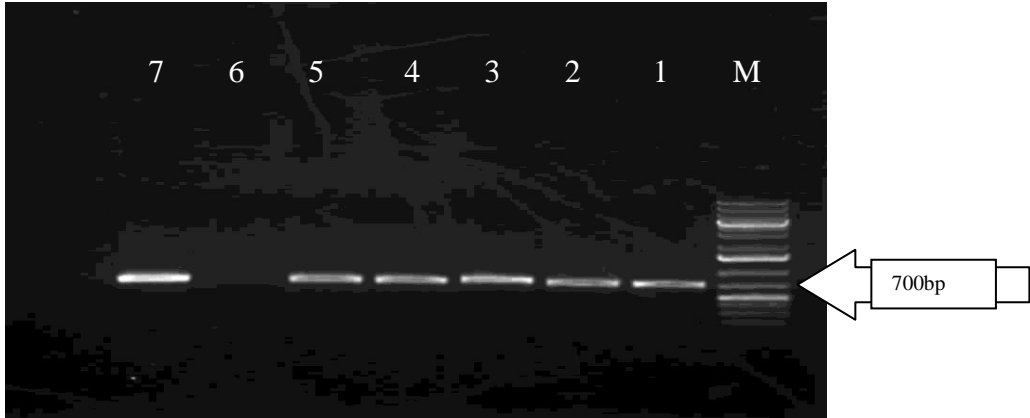
Şekil 8 Bazı *Sideritis* Türlerinin ITS Bölgesine Ait Jel Görüntüsü. (M: Marker, 1: *Sideritis lanata* HD7108, 2: *Sideritis lanata* HD10188, 3: *Sideritis curvidens* HD10091, 4: *Marrubium* ssp., 5: *Stachys* ssp., 6: *Sideritis galatica* HD10047, 7: *Sideritis vuralii* HD10090, 8: *Sideritis libanotica* subsp. *libanotica* EA5324, 9: *Sideritis gulendamiæ* HD10048).



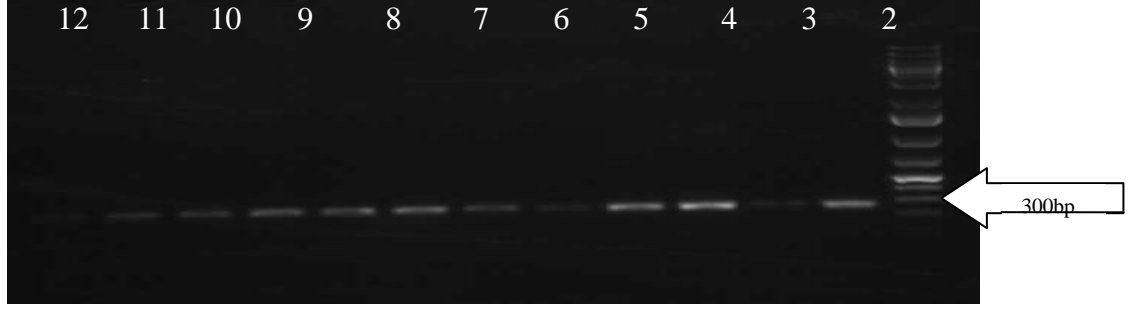
Şekil 9 Bazı *Sideritis* Türlerinin ITS Bölgesine Ait Bant Profilleri. (M: Marker, 1: *Sideritis curvidens* HD7123, 2: *Sideritis curvidens* FC0100, 3: *Sideritis curvidens* HD9901, 4: *Sideritis romana* subsp. *romana* HD7251, 5: *Sideritis romana* subsp. *romana* FC0103, 6: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD9935, 7: *Sideritis montana* subsp. *remota* FC0101, 8: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD10176).



Şekil 10 Bazı *Sideritis* Türlerinin *ndhF* Bölgesine Jel Görüntüsü. (M: Marker, 1: *Sideritis curvidens* HD7123, 2: *Sideritis curvidens* FC0100, 3: *Sideritis curvidens* HD9901, 4: *Sideritis romana* subsp. *romana* HD7251, 5: *Sideritis romana* subsp. *romana* FC0103, 6: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD9935).



Şekil 11 Bazı *Sideritis* Türlerinin *ndhF* Bölgesine Ait jel Fotoğrafı. (M: Marker, 1: *Sideritis lanata* HD7108, 2: *Sideritis lanata* HD10188, 3: *Sideritis curvidens* HD10091, 4: *Marrubium* ssp., 5: *Stachys* ssp., 6: *Sideritis curvidens* FC0100, 7: *Sideritis romana* subsp. *romana*)



Şekil 12 Bazı *Sideritis* Taksonlarının *trnL-F* Bölgesine Ait Jel Fotoğrafı. (M: Marker, 1: *Sideritis lanata* HD7108, 2: *Sideritis lanata* HD10188, 3: *Sideritis curvidens* HD10091, 4: *Marrubium* ssp., 5: *Stachys* ssp., 6: *Sideritis curvidens* HD7123, 7: *Sideritis curvidens* FC0100, 8: *Sideritis curvidens* HD9901, 9: *Sideritis romana* subsp. *romana* HD7251, 10: *Sideritis romana* subsp. *romana* FC0103, 11: *Sideritis montana* subsp. *montana* HD9935, 12: *Sideritis montana* subsp. *remota* FC0101).

3.5 Dizileme ve Dizi Analizi

3.5.1. Dizileme Reaksiyonu

Çalışmada kullanılan bitki materyallerine ait örnekler PZR reaksiyonuyla ITS, *ndhF*, *trnL-F* bölgeleri çoğaltıldı. Bu bölgelerin dizi analizi için çeşitli şirketler seçildi ve direk PZR ürünü şeklinde dizi analizi şirketlerine gönderildi. Her bir örneğin DNA dizisi hem forward hem de revers primerleriyle çift yönlü olarak okutuldu.

Çizelge 10 Bitki Örneklerinin Gönderildikleri Dizi Analizi Şirketleri.

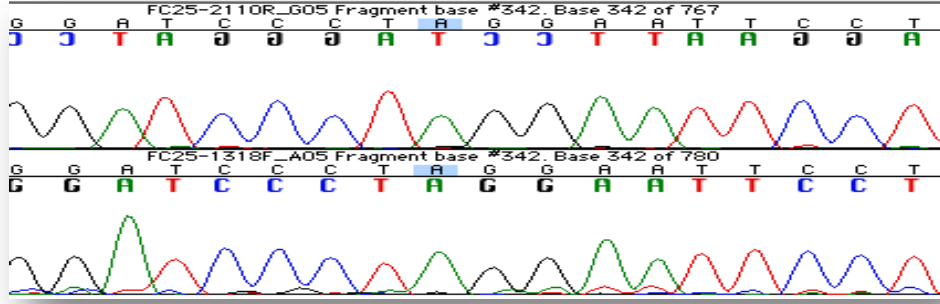
Bitki Materyali herbaryum Numarası	Bitki Türü	Gönderildiği Dizi Analizi Şirketi
FC01	<i>Stachys</i>	Refgen
FC02	<i>Marrubium</i>	Refgen
FC0100	<i>Sideritis curvidens</i>	İYTE
FC0101	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	İYTE
FC0103	<i>Sideritis romana</i> ssp <i>romana</i>	Refgen

Çizelge 10'un Devamı

HD7123	<i>Sideritis curvidens</i>	Refgen
HD7108	<i>Sideritis lanata</i>	Refgen
HD7251	<i>Sideritis romana</i> subsp. <i>romana</i>	Refgen
EA5324	<i>Sideritis libanotica</i> subsp. <i>libanotica</i>	Refgen
HD9901	<i>Sideritis curvidens</i>	Refgen
HD10090	<i>Sideritis vuralii</i>	Refgen
HD10095	<i>Sideritis albiflora</i>	Refgen
HD10048	<i>Sideritis gulendamiae</i>	Refgen
HD10091	<i>Sideritis curvidens</i>	Refgen
HD10188	<i>Sideritis lanata</i>	Refgen
HD10176	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i>	İYTE
HD9935	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>montana</i>	Refgen
HD10047	<i>Sideritis galatica</i>	Refgen
HD10174	<i>Sideritis montana</i> subsp. <i>remota</i>	İYTE

3.5.2 Dizilerin İşlenmesi

Her bir türe ait olan ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerine ait olan dizileri Sequencher 4.10.1 programı kullanılarak işlendi. Dizileme reaksiyonlarında yanlış okunmuş olan bazı kromotogramdaki reverse ve forwarddaki sinyallerin temizliğine bakılarak Sequencher 4.10.1 programında elimizle düzeltildi ve kontigler oluşturuldu böylelikle çalışılan bitki örneklerimizin ITS, *ndhF* ve *trnL-F* bölgelerine ait DNA dizilerimiz elde edilmiş oldu.



Şekil 13 Sequencher 4.10.1 Programındaki Kromatogramdan Bir Görüntü.

3.5.3 Dizi Hizalaması

DNA dizilerinin hizalaması için internette ücretsiz olarak kullanımı olan ClustalW adı verilen program kullanıldı. Dizileme reaksiyonlarından gelen DNA dizilerimizi Sequencher 4.10.1 programında işlendikten sonra Microsoft Office Word programına aktarılır ve fasta formatına getirilir böylece dizilerimiz hizalanmaya hazır hale gelmiş bulunur. ClustalW programında gerekli komutlar verildikten sonra dizilerimiz hizalanır. 3 farklı bölgeye ait olan hizalanan dizilerimiz Ekler'de verilmiştir.

```

FC_01_stachys          CTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTA-GGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCA
S.mont_monthHD_10176  CTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCA-GGCCGAGAGCACGCCTGCCTGGGCGTCA
Marrubium_ssp_FC_02   CTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTA-GGCCGAGGGCACGCTCTGCCTGGGCGTCA
S._mont_monthHD_9935  CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
S.mont._remo_FC_0101  CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
S.curvidens_HD_9901    CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
S.rom.curvid_FC0100   CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
S.rom_rom_FC_0103     CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
S.lanata_HD_10188     CTTGGGGCGCAACTTGCCTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA
*** * ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

Şekil 14 ClustalW Programında Hizalanan Dizilerinden Bir Bölüm.

3. 6 Filogenetik Analiz

Filogenetik analiz yapılmadan önce hizalanan dizilerimiz #Nexus formatına getirilir. Çünkü filogenetik analiz için kullanılan PAUP 4.0b 10 programı bu formatta çalışmaktadır. Uygun formata getirilen diziler gerekli komutlar verilerek filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

Filogenetik ağaç hem mesafe temelli yöntemler hem de karakter temelli yöntemler kullanılarak oluşturulabilir. Karakter temelli yöntemlerden Maksimum Parsimony kullanılarak Heuristik araştırma yapılarak ortak uyumluluk (consensus) ağaçları oluşturulmuştur bunun yanında Bootstrap analizi yapılarak oluşan ağacın dallarının ne kadar güvenilir olduğu tespit edilmiştir. Mesafe temelli yöntemlerden UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) ve NJ (Neighbour Joining) analizleri yapılarak fenetik yöntemlerle ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçlar ve yorumları sonuç ve tartışma bölümünde verilmiştir.

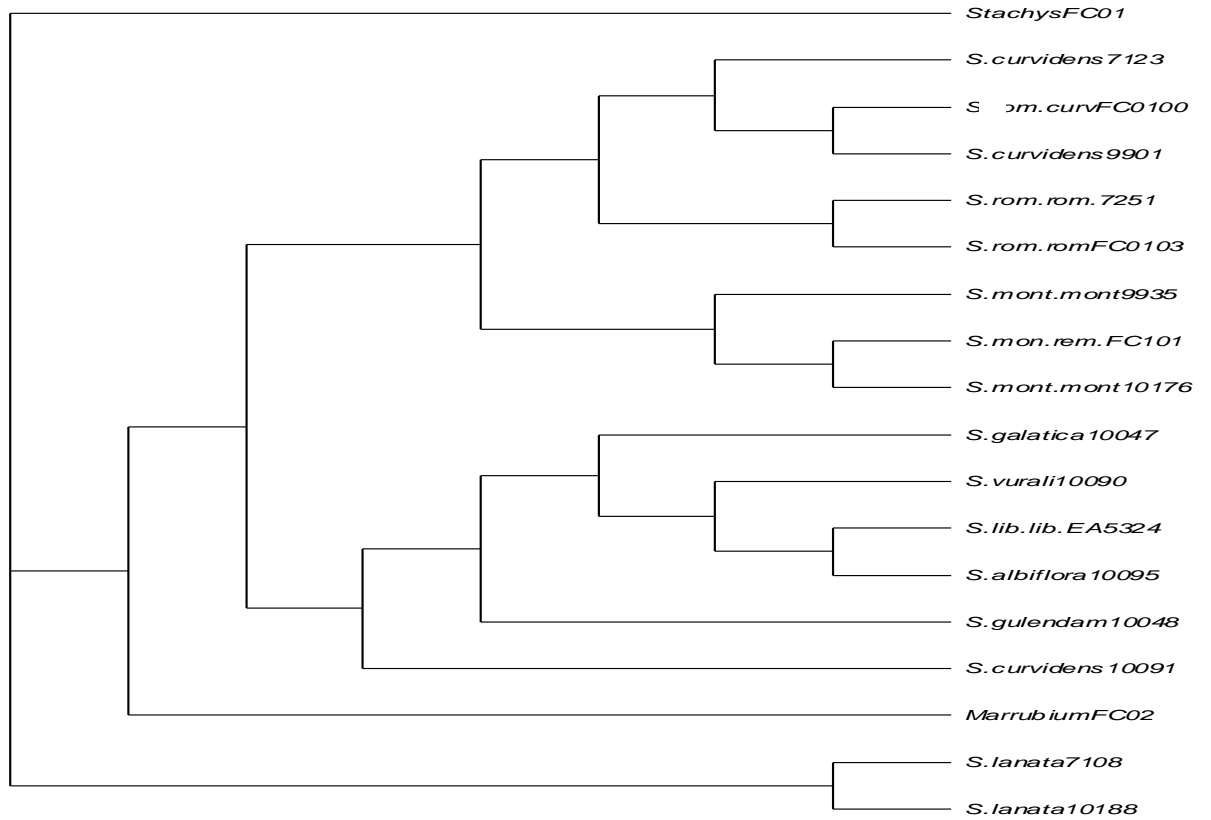
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 ITS Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

Son yıllarda rDNA'nın ITS bölgelerine dayalı filogenetik analizlerle taksonlar arasındaki akrabalık ilişkileri ortaya çıkarılmaktadır. ITS bölgesi; ITS1 (200-250bp), 5,8rDNA (160bp) ve ITS2 (200-250bp) bölgelerinden oluşmaktadır (Şekil 2). Bunlardan 5,8rDNA bölgesi korunmuştur. ITS1 ve ITS2 bölgeleri filogenetik açıdan korunmuş bölgelere göre fazla çözüm sunmaktadır. ITS bölgesindeki polimorfizmler türler arası, tür içi ve populasyon düzeyinde bile oldukça çözümleyicidir. Bir cinsin filogenisi belirlenirken tek bir gen ağacı yeterli veri sağlarken bu gen ağacına ek olarak polimorfizm düzeyi yüksek başka gen bölgeleri kullanılarak çalışılan taksonların filogenetik tarihleri daha doğru ve güvenilir bir biçimde ispatlanır

Filogenetik ağaçlar oluşturulurken karakter temelli yöntemlerden parsimoni kriteri kullanılmıştır. Parsimoni kriteri oldukça sık kullanılmaktadır. Parsimoni metodu bütün ağaçları değerlendirir ve her bir ağaç için bir kriter ya da bir skor verme esasına dayanır. Parsimoni en yüksek ağaç, en tutumlu olan yani genetik ilişkiyi en doğru şekilde yansıtan ağaçtır. Parsimoni metodu evrimin en kısa yolu izlediği, yani doğanın tutucu bir biçimde tutumlu olduğu ve evrimsel süreçlerin ekonomik olduğu kabulünden hareketle çalışır [19].

Bootstrap analizi elde edilen ağaçların dallarının güvenilirlik derecesini istatistiksel olarak test etmeye yarar. Bootstrap değeri %0 ile %100 arasında değişkenlik gösterir. Kress ve arkadaşlarının (2002) karakterize ettiği bootstrap destek kriterlerine göre, ≥ 85 güçlü, %75-80 arası orta, %50-70 arası zayıf ve < 50 çok zayıf şeklinde tanımlanmıştır. Eğer, belli bir dal için bootstrap desteği %50'nin altında ise; araştırmacı ağacın bu kısmındaki dallama modelini belirleyemediği sonucuna varacak ve ağaçta bu dalı tek düğümden çok çatallı (politomi) olarak verecektir [80].

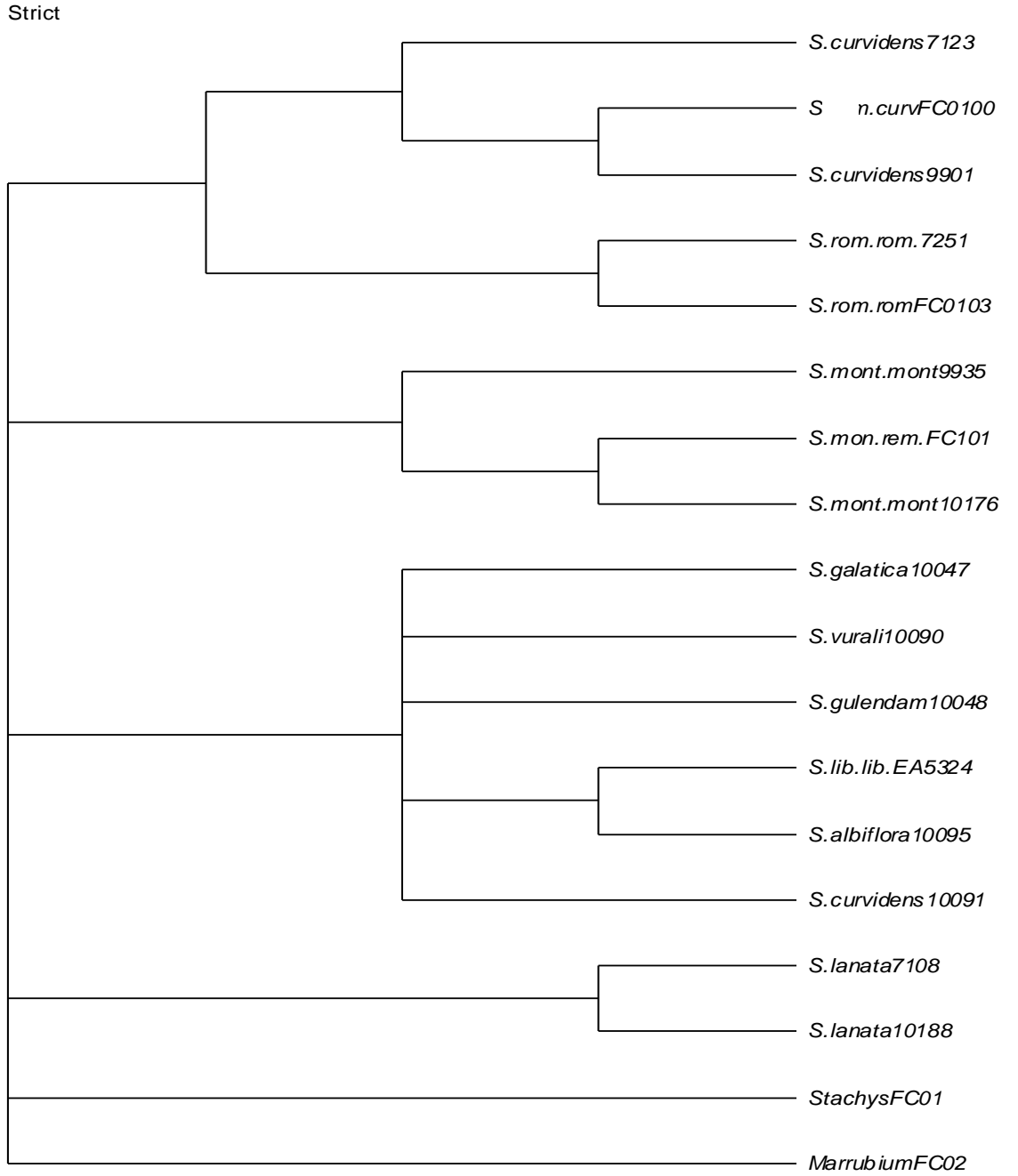


Şekil 15 ITS Bölgesinin Branch and Bound İle Elde Edilen 1 Numaralı Ağaç.

Karakter temelli yöntemlerden Maksimum Parsimoni kriteri kullanılarak branch and bound analizi yapılmıştır. Bu araştırma için oluşturulacak maksimum ağaç sayısı 10000 olarak seçildi. Yapılacak aramada oluşacak dalları değerlendirmek için kullanılan algoritma TBR(Tree-Bisection-Reconnection) olarak seçildi. Tüm karakter tipleri sırasız (unordered) ve eşit ağırlıkta olacak şekilde ayarlandı. Yapılan analizde 30432 ağaç oluştu. Arama sonucunda oluşan 30432 filogenetik ağaçtan 1

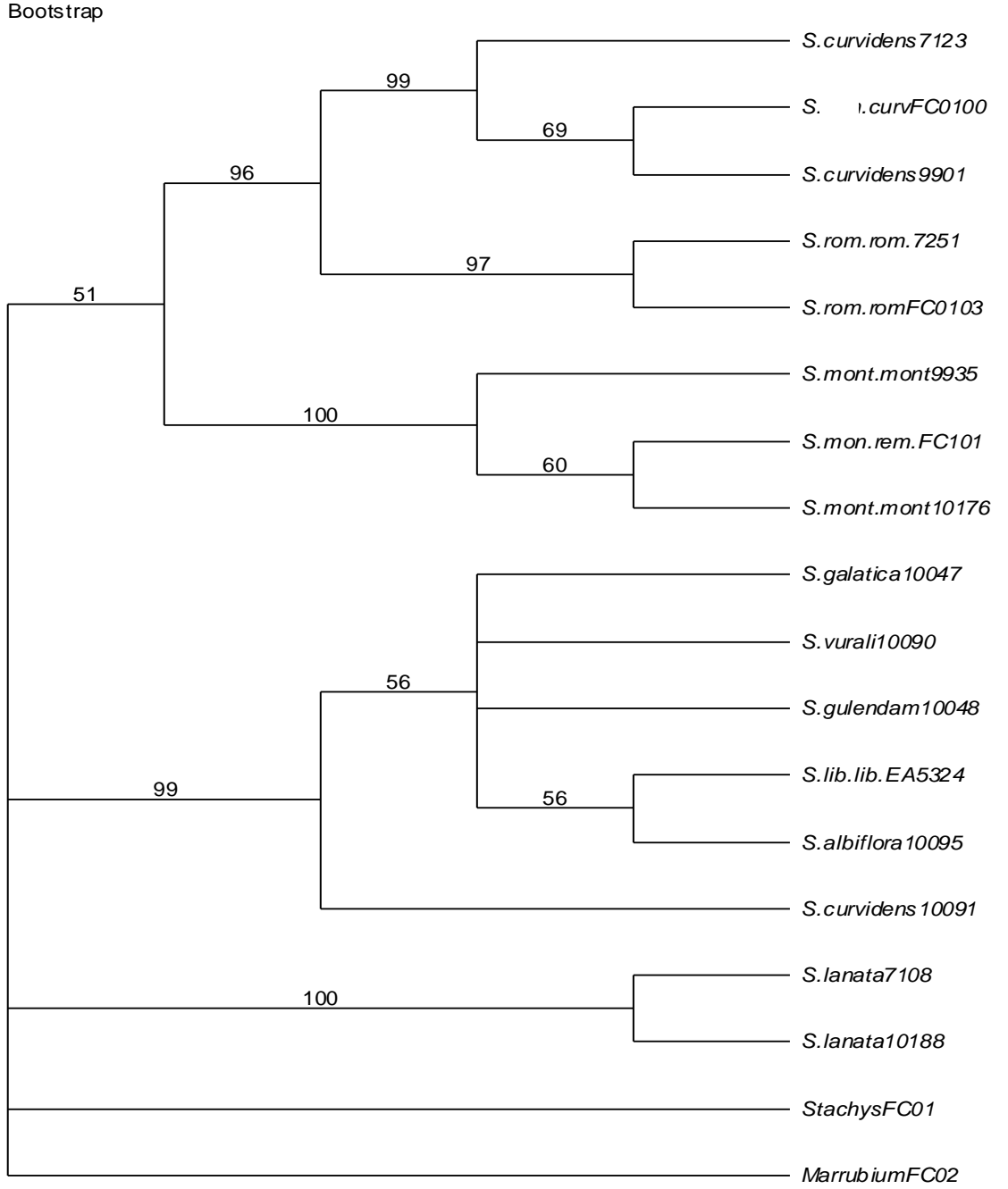
numaralı ağaç seçilmiştir. Heuristik araştırma yaparken ortak uyumluluk (consensus) ağaçlarından strict consensus ağacı da Şekil 16'da gösterilmektedir.

Yapılan parsimoni analizinde 769 karakter incelenmiştir. Bu karakterlerden 565 tanesi sabit (constant), 102 tanesi değişken (variable) parsimonik açıdan bilgi verici olan karakter sayısı (informative character) ise 102'dir. Heuristic araştırma sonucunda 30432 ağaç topolojisi oluştu en iyi ağacın skoru 335 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda dış grup olarak belirlenen *Stachys* ve *Marrubium* cinslerinden *Sideritis* cinsi taksonlarına en yakın *Stachys*, en uzak *Marrubium* cinsine ait olan tür belirlenmiştir. *Sideritis* cinsine ait olan *Empedoclia* seksiyonuna ait türlerden *Sideritis galatica*, *Sideritis brevidens*, *Sideritis gulendamiae*, *Sideritis vuralii*, *Sideritis albiflora*, *Sideritis libanotica* subsp. *libanotica* beklendiği gibi tek yıllık türlerden ayrı bir şekilde grup oluşturmuş ve çok yıllık bu türlerden *Sideritis brevidens* türü diğerlerine nazaran tek yıllık *Sideritis* türlerine daha fazla yakınlık göstermektedir. *Sideritis lanata* türlerine ait olan 7108 ve 10188 numaralı türlerin birbirlerine yakın olduğu oluşan ağaçta görülmektedir. *Sideritis montana* ve *Sideritis remota*'nın alt türleri kendi içerisinde grup oluşturmuştur ve *Sideritis lanata*'ya ; *Sideritis*'in çok yıllık türlerine göre ve dış gruplara nazaran daha yakın akraba oldukları gözlenmiştir. *Sideritis romana*'nın alt türlerine ait olan 7123, 0100 ve 9901 numaralı *Sideritis curvidens*'e ait olup beklendiği gibi diğer *Sideritis* türlerinden daha yakın çıkmıştır *Sideritis romana*'nın diğer 7251 ve 0103 numaralı türleri *Sideritis romana romana*'da diğer taksonlara göre daha yakın çıkmıştır. *Sideritis montana*'nın 9935, 0101 ve 10176 numaralı türlerinden 9935 numaralı olan takson 10176 numaralı olan taksonla aynı isimlendirmeye sahip olmasına karşın 10176 numaralı olan takson 0101 numaralı olan taksonla daha yakın olduğu bu ağaçta gözlemlenmiştir.



Şekil 16 ITS Bölgesinin Parsimoni İle Elde Edilen 1 Numaralı Ağacın Strict Consensusu.

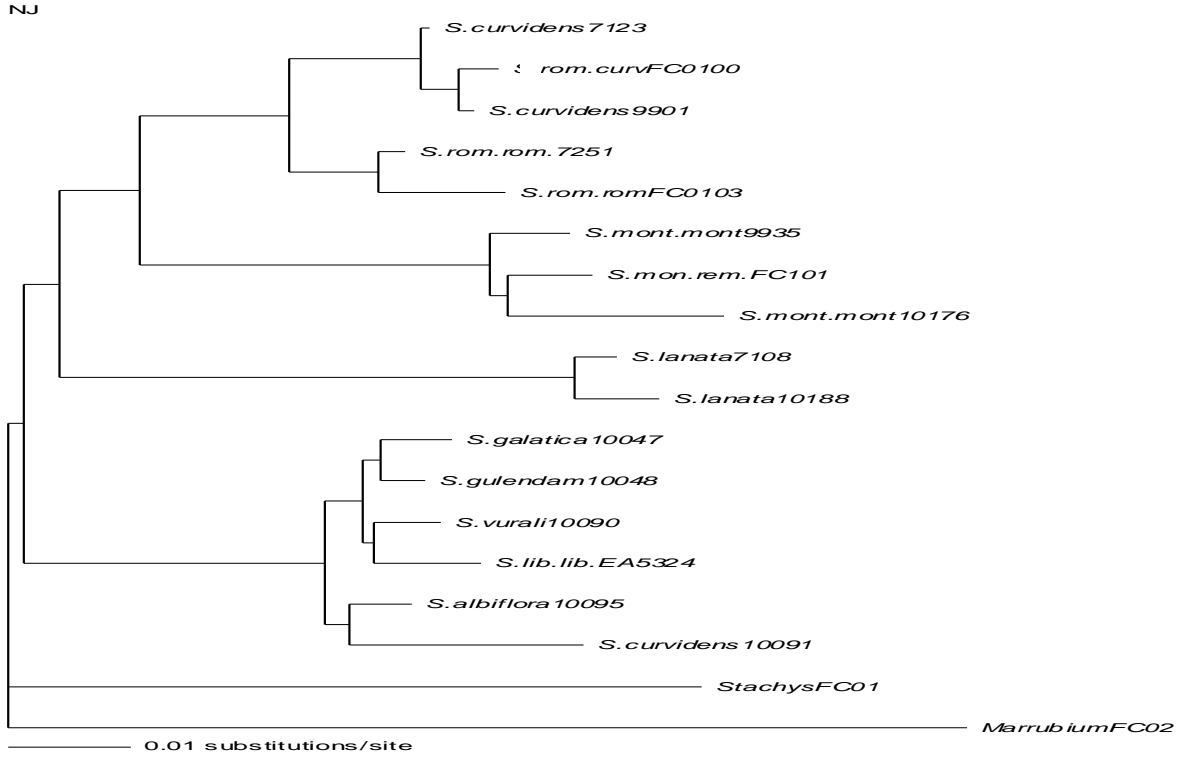
Mutlak uyumluluk (strict consensus) ağacı, sadece bütün parsimonik ağaçlarda ortak olan monofiletik grupları hesaba katarak ağacı düzenler ve bu yüzden de en tutucu yöntemdir. Literatürde en yaygın olarak kullanılan ağaç mutlak uyumluluk ağaçlarıdır [81].



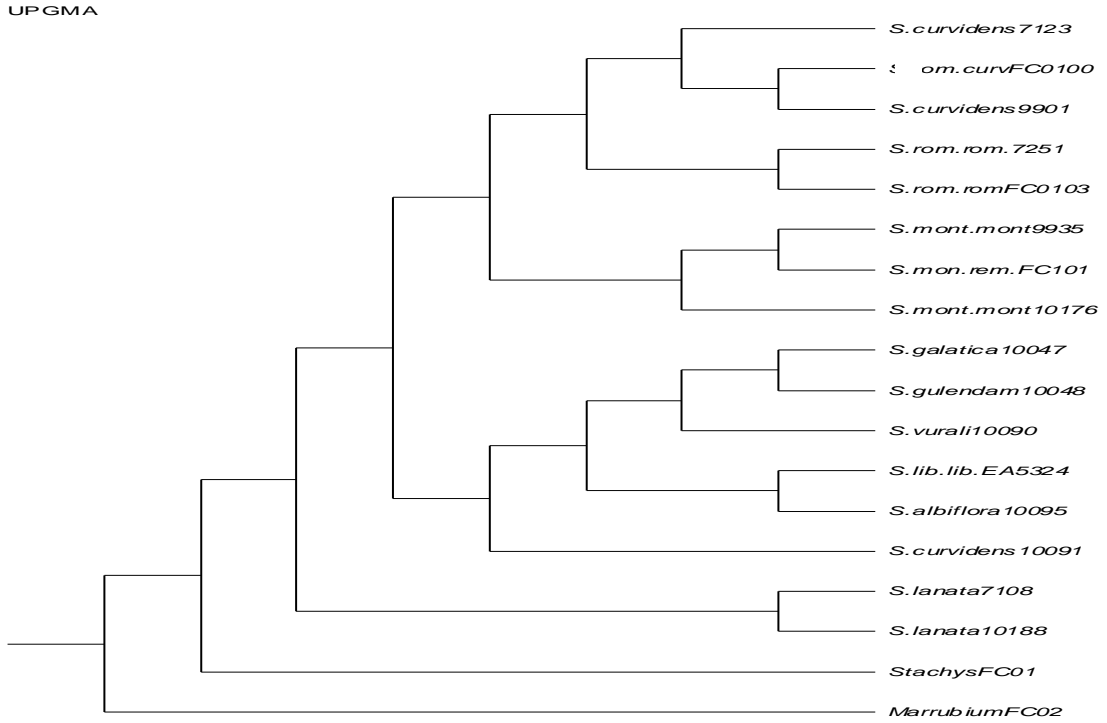
Şekil 17 ITS Bölgesinin Bootstrap Analizi Sonucu Oluşan Ağacı.

Bootstrap analizi oluşan ağaç dallarının parsimoni kriteri kullanılarak istatistiksel yönden en güvenilir olan dalları belirlemede kullanılır [82]. Her bir dalın yüzdelik olarak ne oranda desteklendiğini gösterir. Bootstrap değeri eğer %50'nin altında ise dallanma modeli belirlenemez ve ağaçta bu dal tek düğümden çok çatallı (politomi) olarak görülür.

Oluşturulan bootstrap ağacı, maksimum ağaç sayısı 10000 ve 100 tekrar yapılarak elde edilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi bootstrap desteği %50'nin altında olan dış grupların olduğu dal ve çok yıllık türlerden *Sideritis galatica*, *Sideritis vuralii* ve *Sideritis gulendamiae* türlerinin bulunduğu dal destek oranı %50'nin altında olduğu için politomi oluşmuştur. Oluşan ağaçta *Sideritis lanata*'nın 7108 ve 10188 numaralı taksonlarının bulunduğu dal %100 desteklenmiştir. Bu destek bu iki taksonun farklı lokalitelerden toplandığını fakat birbirlerinden hiçbir farkları olmadıklarını göstermektedir. *Sideritis*'in çok yıllık türlerinin bulunduğu dalın bootstrap değeri ise %99 olup bu taksonların akrabalık derecesi diğer taksonlara göre daha yakındır. İki farklı lokaliteden toplanan *Sideritis romana*'nın alt türlerinin bulunduğu dal %96 desteklenmiştir bu değer bu iki taksonun birbirlerinden farklı olmadığını göstermektedir. *Sideritis curvidens*'in bulunduğu dal %99 oranda desteklenirken bu türün 0100 ve 9901 numaralı olan taksonlarının bulunduğu dal %69 desteklenmiştir. *Sideritis romana* subsp. *romana*'nın bulunduğu dal %97 oranda desteklenmiştir. *Sideritis montana*'nın alt türlerinin bulunduğu dal %100 desteklenirken 9935 ve 10176 numaralı taksonların isimlendirilmeleri aynı olsa da 0101 ve 10176 numaralı türlerin bulunduğu dal %60 oranda desteklenmiştir.



Şekil 18 ITS Bölgesinin Neighbour-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı.



Şekil 19 ITS Bölgesinin UPGMA Analizi Sonucu Oluşan Ağacı.

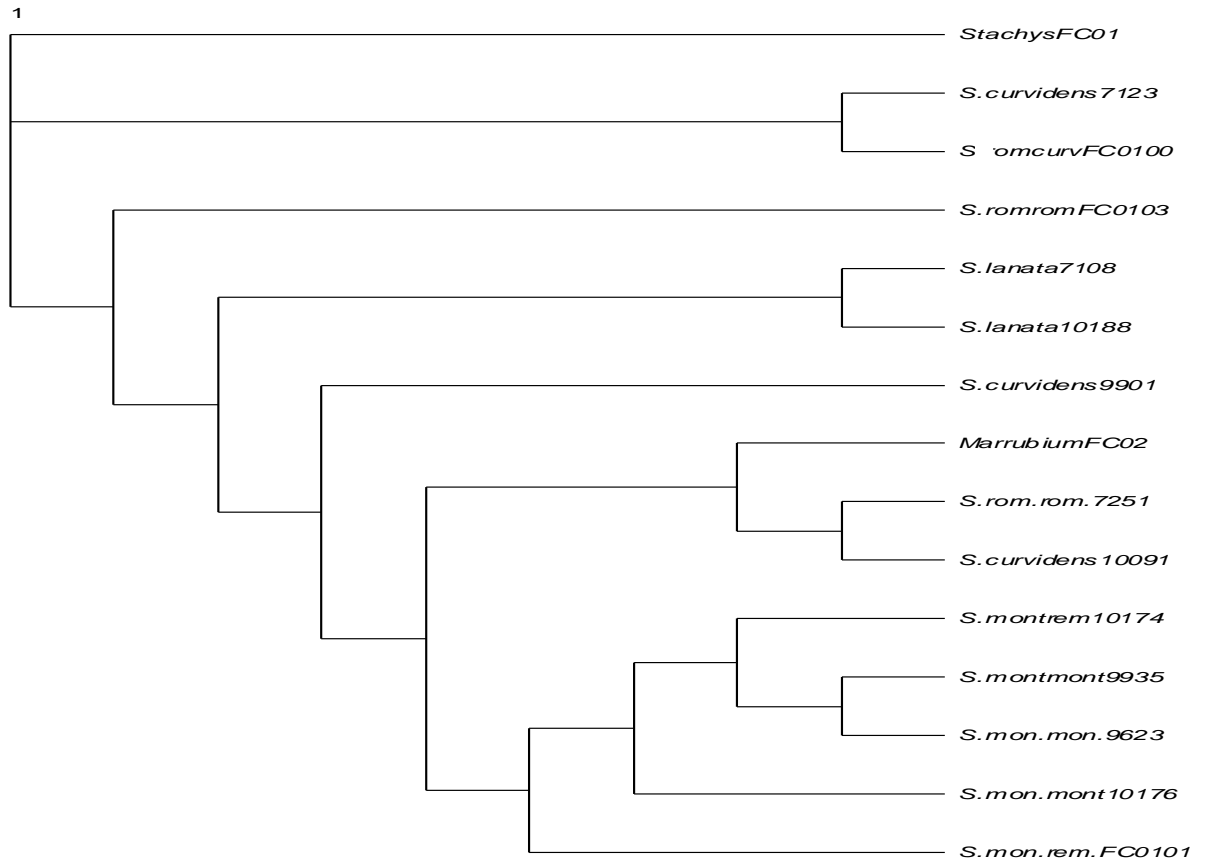
Maksimum parsimoni metoduna ek olarak mesafe temelli yöntemlerden UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) ve NJ (neighbor joining) analizleri yapılmıştır. NJ analizi sonucu oluşan ağaç Şekil 18’de UPGMA analizi sonucu oluşan ağaç ise Şekil 19’da verilmiştir.

Dizi hizalanması (alignment) temeline dayanarak hesaplanan dizi çiftleri arasındaki farklılıkların miktarına (mesafeye) dayanır. Dizi hizalanması sonucu hesaplanan evrimsel mesafeler, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılabilirler. Matristeki bu çiftli mesafe skorlarına dayanarak tüm taksonlar için bir filogenetik ağaç oluşturulabilir. Bu yöntemde kullanılan algoritmalar, kümelenme temelli veya en iyi durum (optimum durum) temelli olarak iki kola ayrılırlar. Kümelenme temelli algoritmalar, en benzer dizi çiftlerinden başlayan bir mesafe matrisine dayanarak filogenetik ağacı hesap ederler. Bu algoritmalar, aritmetik ortalamayı kullanarak ağırlıklı olmayan çift grup yöntemini (UPGMA) ve komşu birleştirme (NJ) yöntemini içerirler. NJ ağaçlarını değerlendirirken ağacın sol alt köşesinde yer alan substitusyon oranından yararlanırsanız örneğin şekil 18’de *Stachys* ve *Marrubium* cinslerine ait olan türlerine derin filogeniden günümüze kadar bakacak olursak *Stachys* cinsine ait olan türün 100 nükleotidde ortalama 7 bazda substitusyon varken *Marrubium* cinsine ait olan türde 100 nükleotidde ortalama 9 bazda substitusyon olduğu sonucuna varılabilir.

Mesafe temelli yöntemlerle oluşturulan ağaçlar karakter temelli yöntemlerden olan parsimoni analizi sonucu oluşan ağaçları desteklediği görülmektedir. *Sideritis lanata*’nın sık uzun beyaz villoz tüylü olması, üst dişi dar lanseolat olması nedeniyle *Sideritis romana*’dan; yaprağı ovat eliptik, 5-25mm genişliğinde olması nedeniyle *Sideritis montana*’dan ayrılır. Moleküler veriler morfolojik verileri bu noktada desteklediğini ağaçta da görüyoruz. ITS bölgesi için yapılan hem mesafe temelli hem de karakter temelli yöntemlerin birbirlerini desteklediklerini oluşan filogenetik ağaçlarda görüyoruz.

4.2 *trnL-F* Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

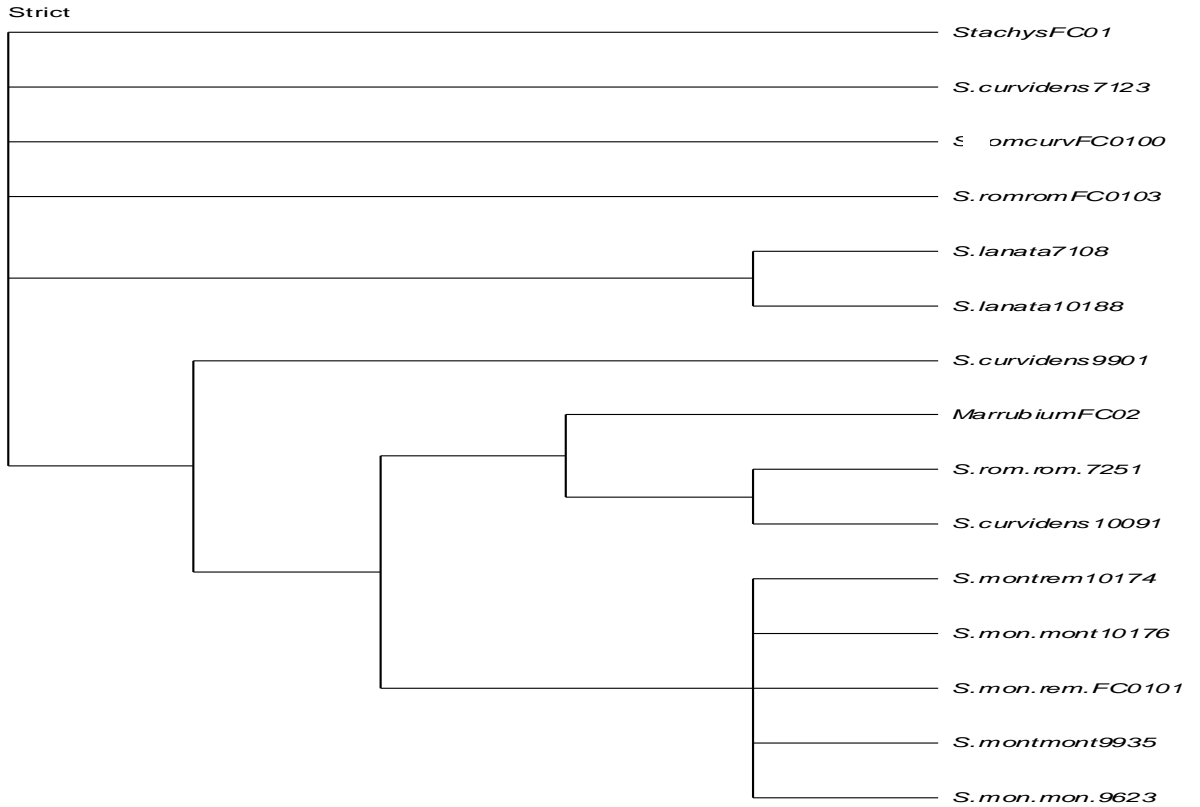
Bir cinsin filogenisi belirlenirken tek bir gen ağacı yeterli veri sağlarken bu gen ağacına ek olarak polimorfizm düzeyi yüksek başka gen bölgeleri kullanılarak çalışılan taksonların filogenetik tarihleri daha doğru ve güvenilir bir biçimde ispatlanır. *trnL-F* bölgesi kloroplast genomu üzerinde yer almaktadır. Genler arası boşluk olan bu bölge monokotil ve dikotillerdeki nükleotid sayısı 120-324bp arasındadır. Genler arası boşluk olan bu bölgede karakter temelli yöntemlerden Maksimum Parsimoni kriteri kullanılarak Branch and Bound , mutlak uyumluluk (Strict Consensus) ve Bootstrap analizleri yapılmıştır. Mesafe temelli yöntemlerden de NJ ve UPGMA analizleri yapılmıştır. Oluşturulan ağaçlar aşağıda verilmiştir. *TrnL-F* bölgesiyle oluşturulan ağaçların ITS bölgesi baz alınarak oluşturulan ağaçların karşılaştırılması da aşağıda yapılmıştır.



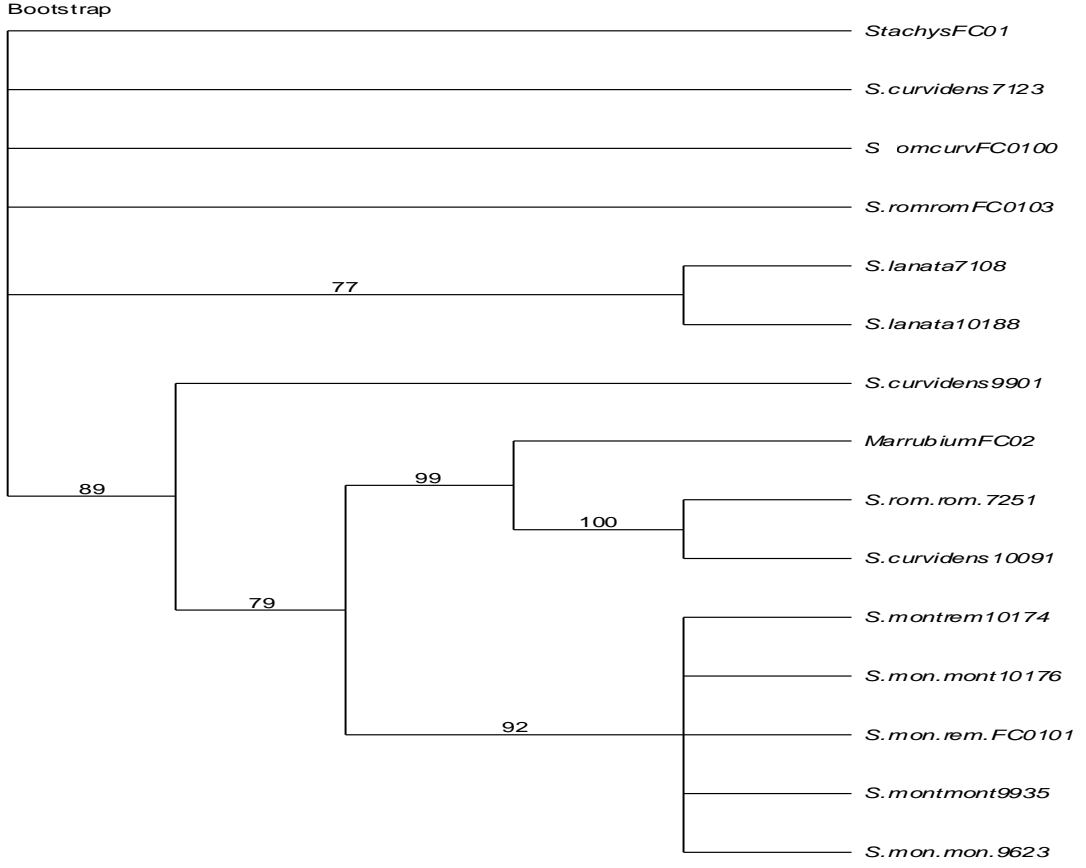
Şekil 20 *trnL-F* Bölgesinin Branch and Bound Analiziyle Elde Edilen 1 Numaralı Ağacı.

Maksimum parsimoni kriteri kullanılarak Heuristik araştırma yapılmıştır. Bu araştırma için oluşturulacak maksimum ağaç sayısı 10000 olarak seçildi. Yapılacak aramada oluşacak dalları değerlendirmek için kullanılan algoritma TBR(Tree-Bisection-Reconnection) olarak seçildi. Tüm karakter tipleri sırasız (unordered) ve eşit ağırlıkta olacak şekilde ayarlandı. Yapılan analiz sonucunda 10,000 ağaç elde edilmiştir. Arama sonucunda oluşan 10,000 filogenetik ağaçtan 1 numaralı ağaç seçilmiştir. Heuristik araştırma yaparken ortak uyumluluk (consensus) ağaçlarından Strict Consensus ağacı da Şekil 21’de verilmiştir.

Parsimoni analizinde toplam 488 karakter incelenmiştir. Bu karakterlerden 262 tanesi sabit (constant), 93 tanesi değişken (variable) ve bilgi verici karakter sayısı 133’tür. En iyi ağacın skoru 284 iken toplam 2000 ağaç oluşmuştur. Bu bölgeyi çalışırken de dış grup olarak *Stachys* ve *Marrubium* cinslerine ait örneklerden birer tane kullanılmıştır fakat ITS bölgesindeki gibi çok yıllık türlere ait örnekler yer almamaktadır.

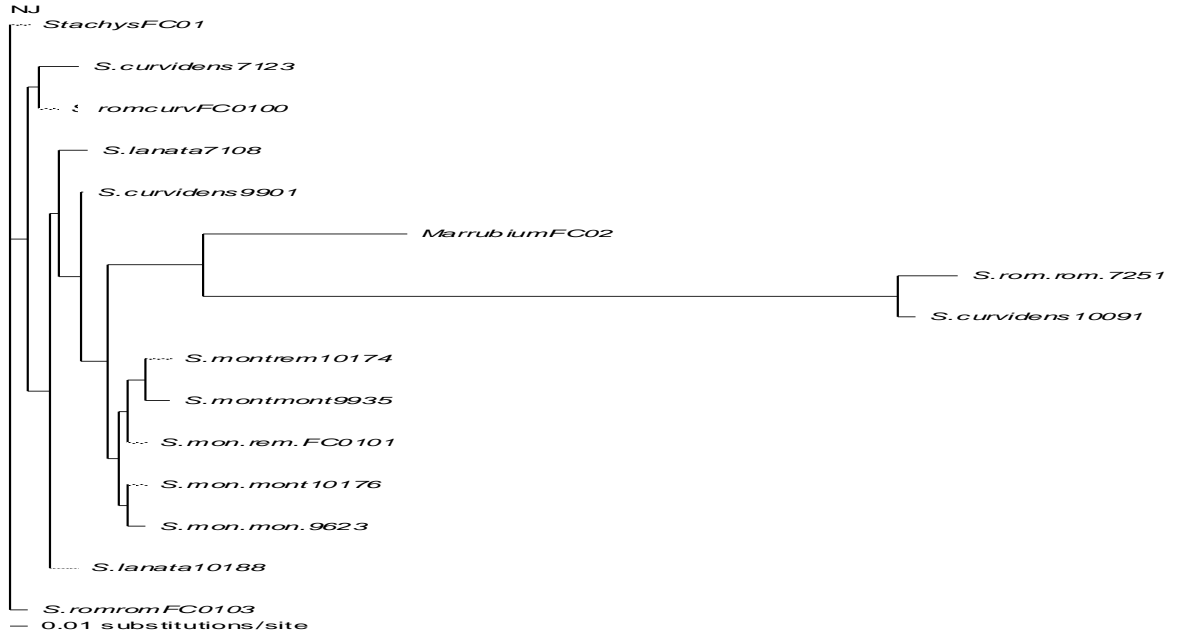


Şekil 21 *trnL-F* Bölgesinin Parsimoni Analizi Sonucu Elde Edilen 1 Numaralı Ağacın Strict Consensusu.

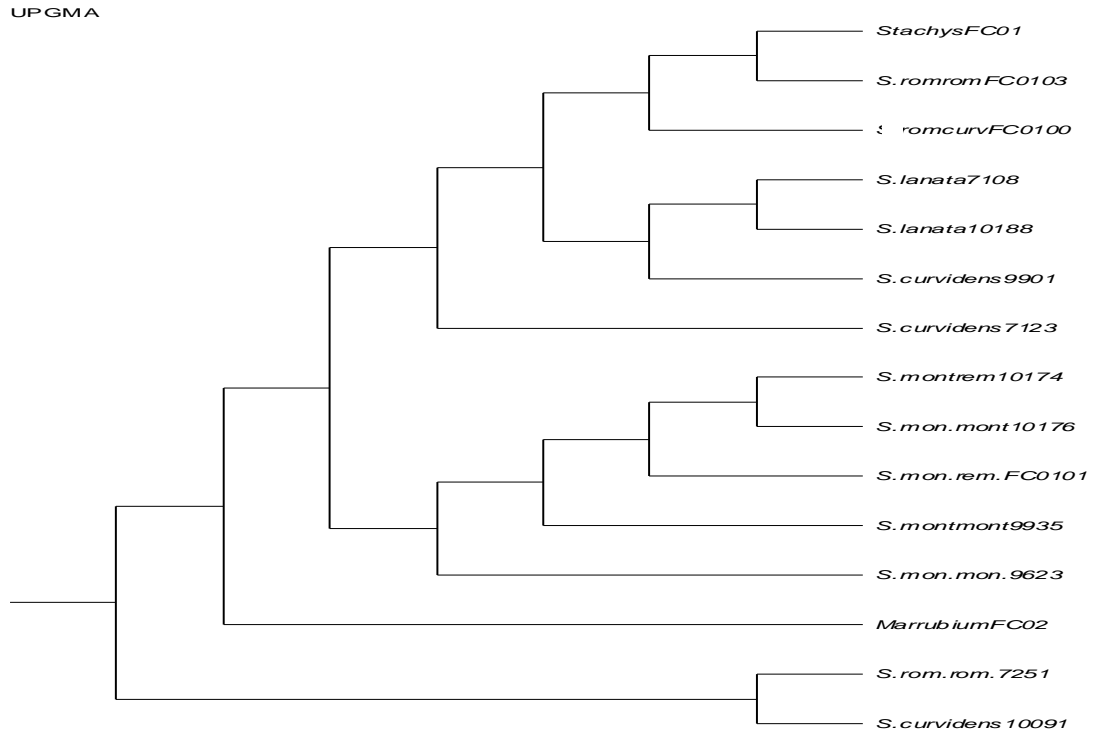


Şekil 22 *trnL-F* Bölgesinin Bootstrap Analizi Sonucu Elde Edilen Ağacı.

trnL-F bölgesine ait filogenetik ağaçların ITS bölgesine ait olan ağaçlardan çok farklı olduğunu görüyoruz. Şekil 20’de dış grup olarak seçtiğimiz *Marrubium* cinsine ait olan tür çalışma grubumuz olan *Sideritis* cinsine ait olan türlerin arasında bulunmaktadır. Buda çok mantıklı olmayan bir sonuçtur. *Sideritis* cinsi için *trnL-F* bölgesi ITS bölgesine nazaran çıkan sonuçlar doğrultusunda pek de kullanışlı olmadığını görüyoruz. ITS verilerine göre *Sideritis* cinsine en uzak tür *Marrubium* cinsine ait olan tür çıkmışken burada *Marrubium* cinsine ait tür *Sideritis romana romana*’ya ait olan 7251 numaralı alt tür ve *Sideritis curvidens* olarak adlandırılmış 10091 numaralı türlerle bulunduğu dalın bootstrap destek oranı %99 çıkmıştır. %99 çok ciddi bir rakam olup ITS verileri daha mantıklı sonuçlar doğurduğundan filogenetik akrabalık dereceleri belirlenirken bu ağaca bakıp kesin bir sonuca varılabileceğini düşünmüyorum.



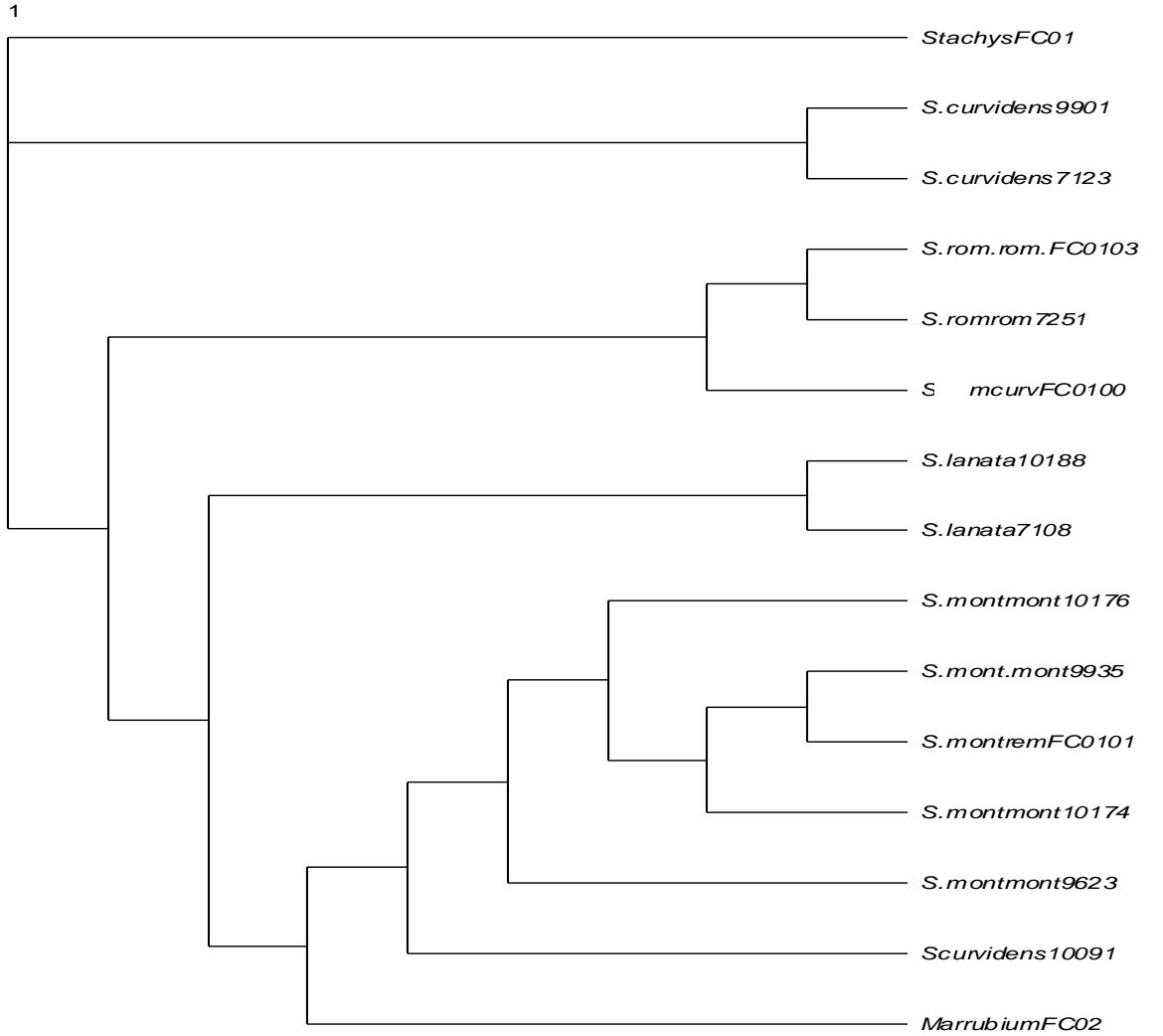
Şekil 23 *trnL-F* Bölgesi İçin Yapılan NJ Analizi.



Şekil 24 *trnL-F* Bölgesi İçin UPGMA Analizi.

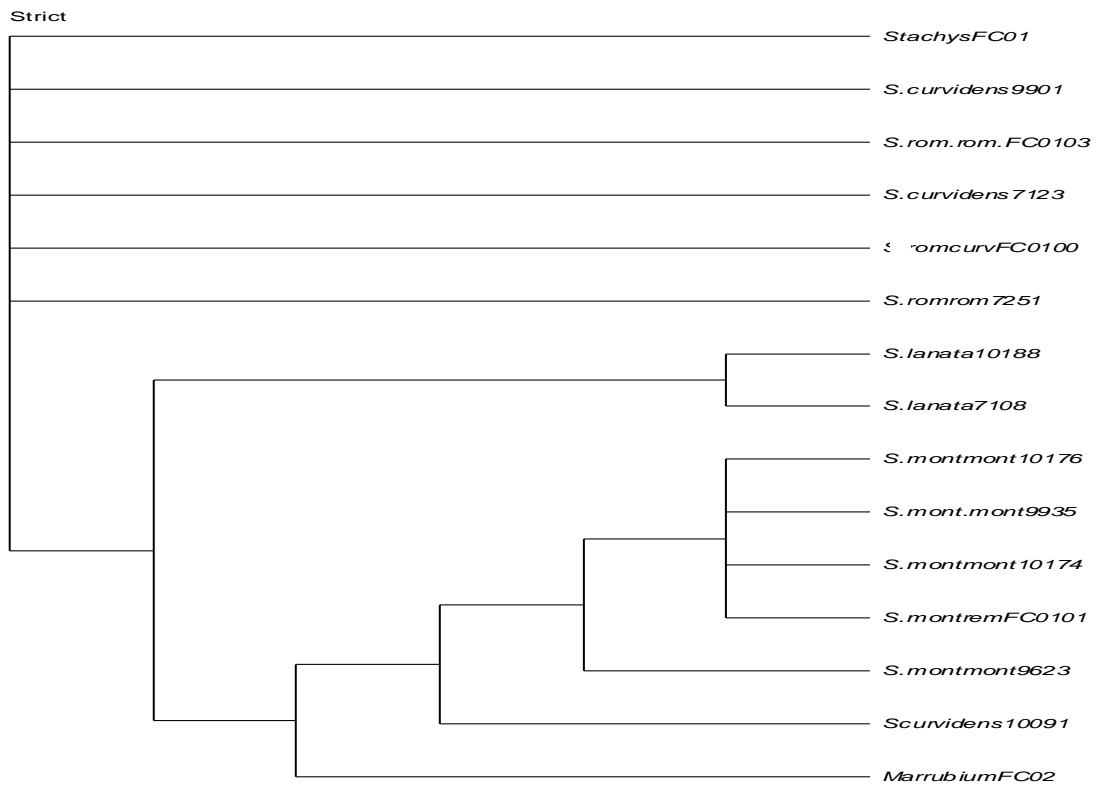
4.3 *ndhF* Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

cpDNA'sında *trnL-F* bölgesine ek olarak oluşan sonuçların daha iyi değerlendirilmesi açısından *ndhF* bölgesine ait bir kısım bölgede çalışılmıştır uzun bir bölge olduğu için biz bu bölge üzerinde belirli bir kısım üzerinde çalışmalarımızı yürüttük. Çalıştığımız bölge yaklaşık 800 bp uzunluğundaydı. Yine diğer bölgelerde olduğu gibi bu bölge üzerinde de aynı analizleri uyguladık böylece hem çalıştığımız bölgelerin hangisi filogenetik açıdan daha mantıklı sonuçlar çıkardı onu tespit etmiş olduk hem de bu üç bölge için oluşturduğumuz ağaçları birbiriyle kıyaslamış olduk.



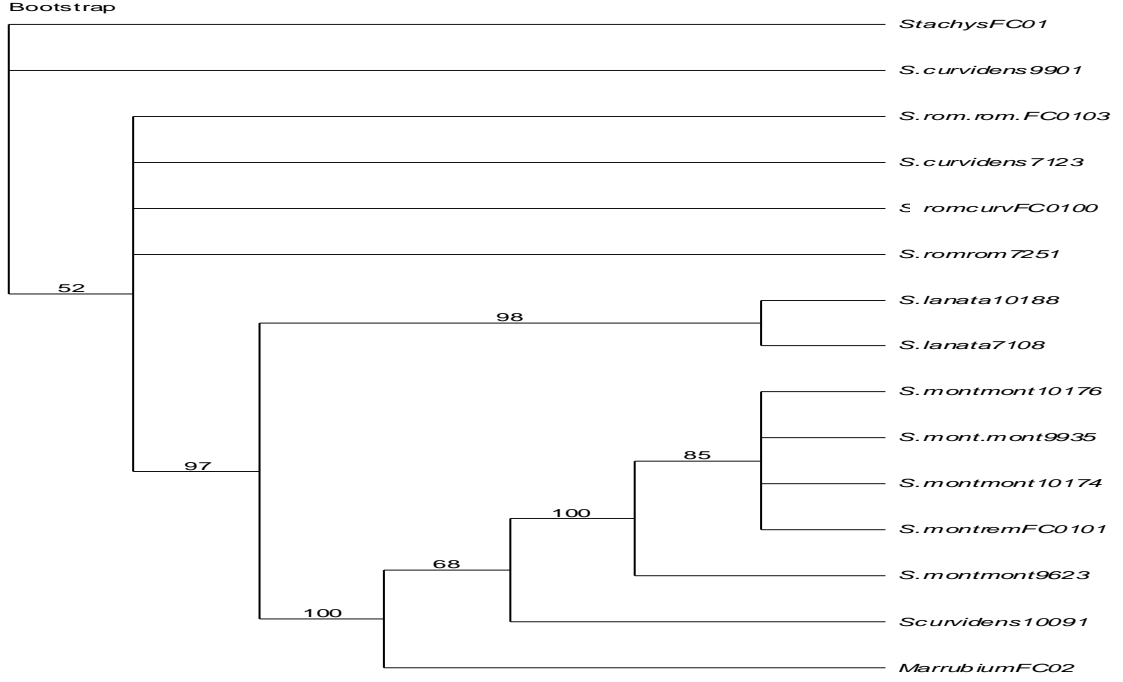
Şekil 25 *ndhF* Bölgesi İçin Yapılan Branch And Bound Analizi

Karakter temelli yöntemlerden maksimum parsimoni kriteri kullanılarak branch and bound analizi yapılmıştır. Bu araştırma için oluşturulacak maksimum ağaç sayısı 10000 olarak seçildi. Yapılacak aramada oluşacak dalları değerlendirmek için kullanılan algoritma TBR olarak seçildi. Tüm karakter tipleri sırasız ve eşit ağırlıkta olacak şekilde ayarlandı. Yapılan branch and bound analizinde 975 ağaç oluştu, en iyi ağacın skoru 204 olarak bulunmuştur. Toplam 861 karakter incelenmiştir. Bu karakterlerden 701 tanesi sabit, 101 tanesi değişken ve 59 tanesi filogenetik açıdan bilgi verici karakterdir.

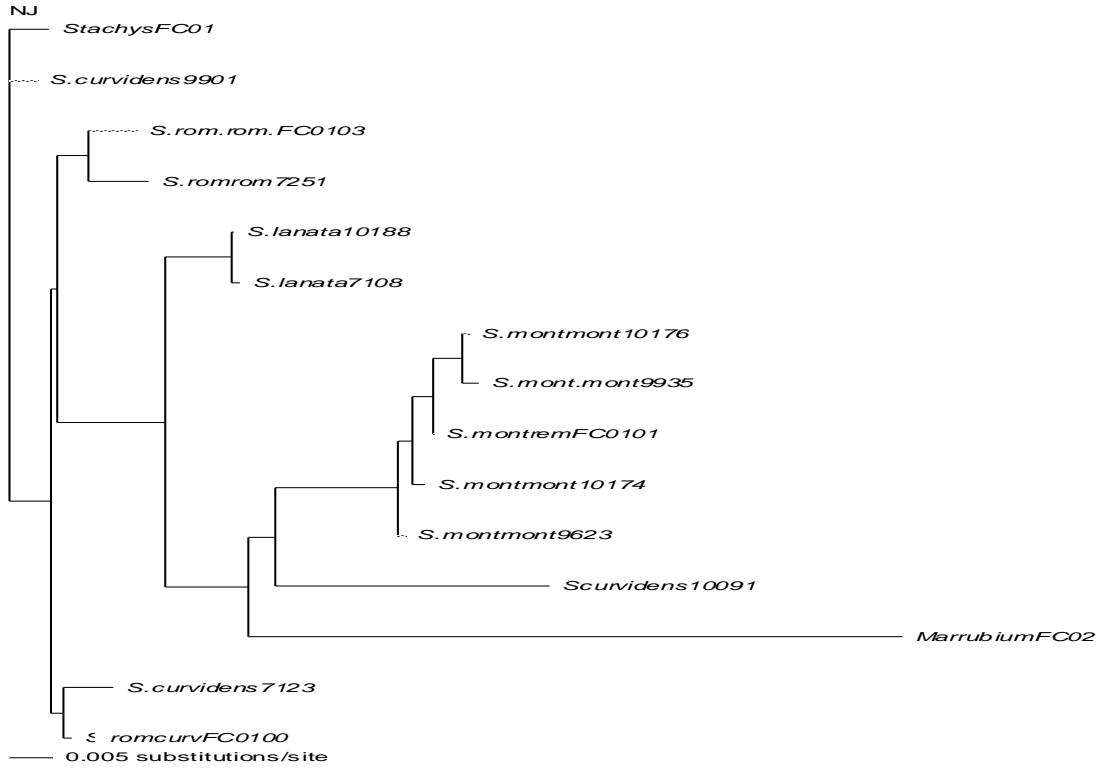


Şekil 26 *ndhF* Bölgesi İçin Oluşturulan Mutlak Uyumluluk Ağacı

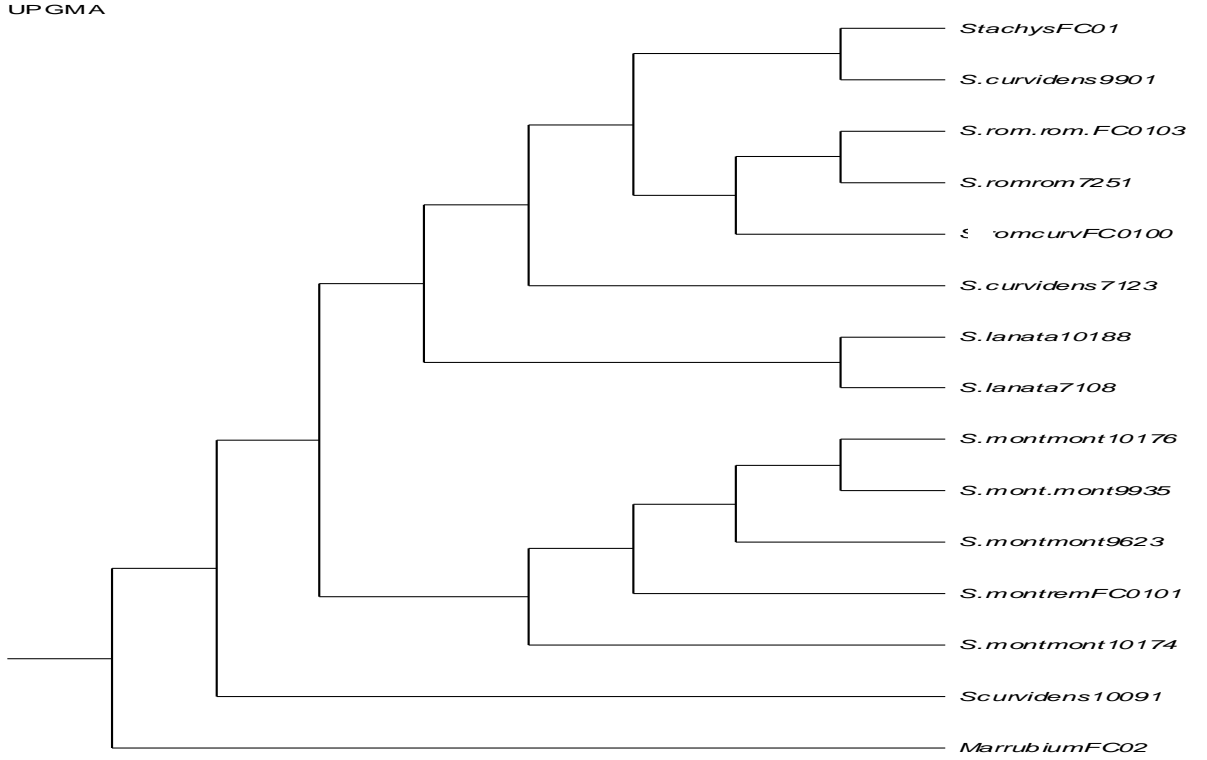
ndhF bölgesi için oluşturulan bu strict consensus ağacı ITS ve *trnL-F* bölgeleri için oluşturulan ağaçtan daha farklı çıkmıştır. *trnL-F* bölgesi gibi *Sideritis montana*'nın alt türlerinin bulunduğu dal ve *Stachys*'in, 7123, 0100, 0103, 9901 ve 7251 numaralı türlerin bulunduğu dalda politomi görülmüştür. Bu türleri birbirinden farklı kılan yeterli veri olmadığı anlamına geliyor.



Şekil 27 *ndhF* Bölgesi İçin Oluşturulan Bootstrap Analizi



Şekil 28 *ndhF* bölgesi için yapılan NJ analizi



Şekil 29 *ndhF* bölgesi için Yapılan UPGMA analizi.

Yapılan tüm bu analizlerde çalışılan 3 bölgeninde birbirlerinden çok farklı sonuçlar çıkardığı görüldü. Ama en mantıklı sonuçları ortaya çıkaran bölgenin nrDNA üzerinde bulunan ITS bölgesi olduğu belirlendi. Hem uzunluk bakımından yeterli bir uzunluğa sahip olması (~700 bp) hem de polimorfizm oranı yüksek olması bakımından diğerlerine göre daha doğru sonuçlara ulaşılmasını sağladı. Çalışılan diğer 2 bölge kloroplast DNA'sı üzerindedir ve *trnL-F* bölgesi yeterli uzunluğa sahip olmadığı için (~350 bp) *ndhF* bölgesinin de uzunluğu ITS'den daha fazla olmasına rağmen korunmuş (kodlama yapan) bir bölge olduğu için ve polimorfizm oranı düşük olması nedeniyle kesin bir çözüm sunmamaktadır. Dolayısıyla ITS bölgesinin en doğru sonuçları verdiği ve kloroplast DNA'sının genelde anasal kalıtım göstermesi nedeniyle sonuçların ITS üzerinden değerlendirilmesinin daha doğru olacağı ortaya çıkmaktadır.

ITS sonuçlarına göre ise *Sideritis romana* ve *Sideritis curvidens*'in ayrı türler olduğu görülmektedir. Şekil 17'de *Sideritis curvidens*'in bulunduğu dalın bootstrap

desteği %99, *Sideritis romana*'nın bulunduğu dalın bootstrap değeri %97 çıkması bu sonuca varılmasını sağlamaktadır.

Sonuç olarak tüm tek yıllık taksonların ve dış grup olarak alınan tüm çok yıllık taksonların da monofiletik olduğu görülmüştür (Şekil 17, 18, 19, 20). Çok yıllık taksonların arasında bulunan *Sideritis curvidens* HD10091 türü ile aynı 10091 numarasına sahip olan *Sideritis brevidens* türü bulunmaktadır. *Sideritis curvidens* HD10091 numaralı tür çok yıllık diğer taksonlarla aynı dalda çıktığı için bu tür tek yıllık olarak değil de çok yıllık olarak değerlendirilmelidir. Bu taksonun araziden toplanması sırasında sehven *S. brevidens* yerine *S. curvidens* olarak yazıldığı anlaşılmaktadır.

5. EKLER

5.1 Çalışılan Taksonların ITS Bölgesi Dizi Hizalaması

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```
Scurvidens7123          -----GTTT-CCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SromanacurvFC0100      ----CGTGACAAGGTT-CCGTAGGTGGACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
ScurvidensHD7123       AAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG-ACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
ScurvidensHD9901       ----CGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG-ACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-ACACCTGCA
SHD7251                -----TAGGTGA-CCTGCGGAAGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SromanaromFC0103      -----CCAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SMontmonthHD9935      -----GCTACTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SmontremotaFC0101     -----AAGGGTTCCGTAGGTGGACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SmontmonthHD10176     -----GAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SHD10091              -----CCTGCGGTTGCTAGGTGA-CCTGCGG--AGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SalbifloraHD10095     -----GTGA-CCTGCGGAAGGATCATTGTCTGCGAAACCTGCA
SgalaticaHD10047      -----CGTAGGTGAACCTGCGG-AAGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SvuraliiHD10090      -----GCTCGTAGGTGAACCTGCGG-AAGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SgulendamiaeHD10048  -----TAGGTGA-CCTGCGG-AAGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
EA5324                -----ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGG-AAGGATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SlanataHD7108         -----TTTCCGTAGGTGA-CCTGCGGA-GG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
SlanataHD10188       -----GTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
FC01STACYS           -----CCTCCGGGTTTCATAGGTGA-CCTGCGGAAGG-ATCATTGTCTG-AAACCTGCA
MarrubiumsspFC02     -----CCGTAGTGA-CCTGCGG--AGATCATTGTCTG-GAACCTGCA
                        *      *      *      *      *      *      *      *      *      *
```

```
Scurvidens7123          AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SromanacurvFC0100      AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCGGGCGCGGGGAGCGGGGG--
ScurvidensHD7123       AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
ScurvidensHD9901       AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SHD7251                AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SromanaromFC0103      AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SMontmonthHD9935      AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCGGGCGCGAGGC-----
SmontremotaFC0101     AA-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCGGGGGCGCGAGGC-----
SmontmonthHD10176     AG-GCAGACCGCGAACACGTTCAACAAAAAACAACCCGGGGGCGCGAGGC-----
SHD10091              AA-GCAGACCGCGAACACGTTAG----AAACAACGCGGGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SalbifloraHD10095     AA-GCAGACCGCGAACACGTTAG----AAACAATGCCCCG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SgalaticaHD10047      AA-GCAGACCGCGAACACGTTAC----AAACAACGCCCCG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SvuraliiHD10090      AA-GCAGACCGCGAACACGTTAC----AAACAACGCCCCG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SgulendamiaeHD10048  AA-GCAGACCGCGAACACGTTAC----AAACAACGCCCCG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
EA5324                AA-GCAGACCGCGAACACGTTAG----AAACTACGCCCCG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
SlanataHD7108         AAAGCAGACCGCGAACACGTTAC--AAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGGCGGGGG--
SlanataHD10188       AAAGCAGACCGCGAACACGTTAC--AAAAAACAACCCCGG-CGCCGGGGAGCGGGGG--
FC01STACYS           AAAGCAGACCGCGAACACGTTAC----AAAAAACAACGCGG-CGCCGGGGGCGGGGG--
MarrubiumsspFC02     AAGCAGACCGCGAACACGTTAT----TAACAACCCCGG--GCCGGGGTCTGGGGGG
*      *      *      *      *      *      *      *      *      *
```

```
Scurvidens7123          CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
SromanacurvFC0100      CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
ScurvidensHD7123       CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
ScurvidensHD9901       CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
SHD7251                CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
SromanaromFC0103      CGACCC-----GGGACGCGGCGC-----CG
SMontmonthHD9935      ---CCCC-----GC-----
SmontremotaFC0101     ---CCCC-----G-----
SmontmonthHD10176     ---CCCC-----G-----
SHD10091              CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
SalbifloraHD10095     CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
SgalaticaHD10047      CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
SvuraliiHD10090      CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
SgulendamiaeHD10048  CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
EA5324                CGACCC-----GCGACGCGGCC-----CG
SlanataHD7108         AGACCC-----GCCGCGGCGCCGAC-----CCGCGCGGCTCGCGCCGCGG
SlanataHD10188       AGACCC-----GCCGCGGCGCCGAC-----CCGCGCGGCTCGCGCCGCGG
```


SmontmontHD10176 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SHD10091 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SalbifloraHD10095 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SgalaticaHD10047 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SvuraliiHD10090 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SgulendamiaeHD10048 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
EA5324 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SlanataHD7108 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
SlanataHD10188 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
FC01STACYS TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
MarrubiumsspFC02 TGGGATACTTGGTG-TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT

Scurvidens7123 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SromanacurvFC0100 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
ScurvidensHD7123 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
ScurvidensHD9901 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SHD7251 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SromanaromFC0103 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SMontmontHD9935 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SmontremotaFC0101 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SmontmontHD10176 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SHD10091 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SalbifloraHD10095 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SgalaticaHD10047 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SvuraliiHD10090 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SgulendamiaeHD10048 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
EA5324 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SlanataHD7108 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
SlanataHD10188 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
FC01STACYS GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC
MarrubiumsspFC02 GCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAGCCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCC

Scurvidens7123 CCCTCCCCCTCCAC-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SromanacurvFC0100 CCCTCCCCCTCCAC-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
ScurvidensHD7123 CCCTCCCCCTCCAC-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
ScurvidensHD9901 CCCTCCCCCTCCAC-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SHD7251 CCCTCCCCCTCCTT-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SromanaromFC0103 CCCTCCCCCTCCTT-----GGGGGCGGGCG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SMontmontHD9935 CCCTCCCCCAGCCTCTCGGGGCGGGGGTGGGCGTGGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SmontremotaFC0101 CCGTCCCCCAGCCTCTCGGGGCGGGGGTGGGCGTGGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SmontmontHD10176 CCGTCCCCCAGCCTCTCGGGGCGGGGGTGGGCGTGGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SHD10091 CCTCCCCC--GCTCCG-----CGGGGCGGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SalbifloraHD10095 CTTCCCCC--CCTCGC-----ACGGGG--GGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SgalaticaHD10047 CCTCCCCCCTGCTCGC-----GCGGGG--CGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SvuraliiHD10090 CCTCCCCCCTGCTCGC-----GCGGGG--TGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SgulendamiaeHD10048 CTTCCCCCCTGCTCGC-----GCGGGG--CGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
EA5324 CCTCCCCCCTGCTCGC-----GCGGGG--TGGGTGCCGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SlanataHD7108 CCTCCCACCCCGCTCG-----GCGGGTGGGGTTCGG--GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
SlanataHD10188 CCTCCCACCCCGCTCG-----GCGGGTGGGGTTCGG--GTGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
FC01STACYS CCTCACCCCCGACACG-----GGGGGCGCGGGAGGGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
MarrubiumsspFC02 CCTCCCCCGC-----GGGGTGGG-----GGGCGGAGATTGGCCCCCGTG
* * ** *

Scurvidens7123 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SromanacurvFC0100 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
ScurvidensHD7123 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
ScurvidensHD9901 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SHD7251 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SromanaromFC0103 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SMontmontHD9935 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SmontremotaFC0101 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SmontmontHD10176 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACACGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SHD10091 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SalbifloraHD10095 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SgalaticaHD10047 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SvuraliiHD10090 CGCAGCTATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SgulendamiaeHD10048 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGCAGCGT
EA5324 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SlanataHD7108 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
SlanataHD10188 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
FC01STACYS CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACGCAGC---GTC
MarrubiumsspFC02 CGCAGCGATGCGCGC---GGCCGGCCAAACCCGAATCCGCCGT-CGACCCGC---GTC
*** * **** ***** ***** ***** ***** * **

Scurvidens7123 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SromanacurvFC0100 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
ScurvidensHD7123 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
ScurvidensHD9901 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SHD7251 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SromanaromFC0103 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SMontmontHD9935 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SmontremotaFC0101 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
Shd10091 GCGACCAGTGGTGGTTGAACGCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SalbifloraHD10095 GCGACCAGTGGTGGTTGAACACTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SgalaticaHD10047 GCGACCAGTGGTGGTTGAACACTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SvuraliiHD10090 GCGACCAGTGGTGGTTGAACACTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
Sgulendamiaehd10048 GCGACCAGTGGTGGTTGAACACTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
EA5324 GCGACCAGTGGTGGTTGAACACTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SlanataHD7108 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
SlanataHD10188 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
FC01STACYS GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
MarrubiumsspFC02 GCGACCAGTGGTGGTTGAACCCTCAACTCGCGTGTGTGCGGCCCGCATGCGCCGCCGGC
***** ** * ** *

Scurvidens7123 CCGGAGACGA-AACGAACCCGGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SromanacurvFC0100 CCGGAGACGA-AACGAACCCGGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
ScurvidensHD7123 CCGGAGACGA-AACGAACCCGGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
ScurvidensHD9901 CCGGAGACGA-AACGAACCCGGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SHD7251 CAGGAGACGG-AACGAACCCAGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SromanaromFC0103 CAGGAGACGG-AACGAACCCAGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SMontmontHD9935 ACGGAGACGA-ACCGAACCCCAACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SmontremotaFC0101 ACGGAGACGA-ACCGAACCCCAACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
Shd10091 ACGGAGACGA-ACCGAACCCCAACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SalbifloraHD10095 CCGGAGAG-A-C--GGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SgalaticaHD10047 CCGGAGAGGA-C--GGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SvuraliiHD10090 CCGGAGAGGA-A--GGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
Sgulendamiaehd10048 CCGGAGAGGA-A--GGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
EA5324 CCGGAGAGGA-C--GGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SlanataHD7108 CCGGAGACGA-ACGAAACCCAGA-GGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
SlanataHD10188 CCGGAGACTT-GGCAGACCC-AACGGAGCGATCGCGAATCGCGCCACGACCGCGACCCC
FC01STACYS CCGGAAACAGCAACCGAACCCCAACGGCGGAGCAGCATCGTGCACGACCGCGACCCC
MarrubiumsspFC02 CCGGAAACAGCAACCGAACCCCAACGGCGGAGCAGCATCGTGCACGACCGCGACCCC
*** * * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** * ** *

Scurvidens7123 AGGTCAGGC-GGGATCACCCGCTGAGTTTAAAGCATATCATAAAGCGGAGGAAA
SromanacurvFC0100 AGGTCAGGC-CGGATCACCCGCT-----
ScurvidensHD7123 AGGTCAGGC-GGGATCACCCGCTGAGTTTAAAGCATATCA-----
ScurvidensHD9901 AGGTCAGGC-GG-ATCACCCGCTGA-----
SHD7251 AGGTCAGGC-GG-GATC-----
SromanaromFC0103 AG-TCAGGC-GT-GTCACCCGCTGA-----
SMontmontHD9935 AGGTCAGGC-----
SmontremotaFC0101 AGGTCAGGC-GGGATCACCCGCTGA-----
Shd10091 AGTTTAGGC-GGGATCACCCGCTGA-----
SalbifloraHD10095 AGGTCAGGC-TGAGTCTCTG-----
SgalaticaHD10047 AGTTTAGGC-----
SvuraliiHD10090 AGGTCAGGC-GGGAATTCACCCG-----
Sgulendamiaehd10048 AGGTCAGGC-GGGAT-----
EA5324 AGGTCAGGC-GGGATCACCCG-----
SlanataHD7108 AGGTCAGGC-GGGATCACCCGCTGAGTTTAAAGCATATCATAAAGCGGAGGAA
SlanataHD10188 CAGTCAG-C-GGGATCACCCGCTGA-----
FC01STACYS AGGTCAGGC-GGGAT-----
MarrubiumsspFC02 AG-TCAGGC-----

5.2 Çalışılan Taksonların *trnL-F* Bölgesi Dizi Hizalaması

FC01stachys --TGGTTCAAGTCCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SromcurvFC0100 -----CCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
Scurvidens7123 --TGGTTCTAGTCCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
Scurvidens9901 --GGTTCAAGTCCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SmontremotaFC0101 -----TCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SmontremotaHD10174 -----CTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SmontmontHD10176 -----TCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA

```

Slanata7108 --TGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SLanataHD10188 -----CCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
SromromFC0103 ---GGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCA
Smontmont9623 --TGGTTCAAG-TCCCCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAATATAGTTATCCCA
Smontmont9935 --TGGTTCAAG-TCCCCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAATATAGTTATCCCA
MarrubiumsspFC02 --TGGTTCAATGTCCCTCTATCCCCAAAAAGTCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCG
S7251 ATTTGAACTGGTGACACGAGG--ATTTTCAGTCTCTGCTCTACCAGCTGAGCTATCCCG
S10091 ATTTGAACTGGTGACACGAGG--ATTTTCAGTCTCTGCTCTACCAGCTGAGCTATCCCG
* . . . . . * * : * : * * . * . : * * * * * .

FC01stachys CCCCCCCTT-----
SromcurvFC0100 CCCCCCCTT-----
Scurvidens7123 CCCCCCCTT-----
Scurvidens9901 TCCCCCCTT-----
SmontremotaFC0101 TCCCCCCTT-----
SmontremotaHD10174 TCCCCCCTT-----
SmontmontHD10176 TCCCCCCTT-----
Slanata7108 TCCCCCCTT-----
SLanataHD10188 TCCCCCCTT-----
SromromFC0103 CCCCCCCTT-----
Smontmont9623 TCCCCCCTT-----
Smontmont9935 TCCCCCCTT-----
MarrubiumsspFC02 CCCCCCCTTTTCGTTTTTCGTTAGCGGTTCCAAATCTTTATCTTTCTGATTCTTTGACTT
S7251 ACCATTCCCAATG-
S10091 ACCATTCCCAATG-
** . *

FC01stachys -----
SromcurvFC0100 -----
Scurvidens7123 -----
Scurvidens9901 -----
SmontremotaFC0101 -----
SmontremotaHD10174 -----
SmontmontHD10176 -----
Slanata7108 -----
SLanataHD10188 -----
SromromFC0103 -----
Smontmont9623 -----
Smontmont9935 -----
MarrubiumsspFC02 TCGTATTTAGCGTAAATAACTTTCTTTATCACATGTGATATAGAAATATACATCCACAT
S7251 -----
S10091 -----

FC01stachys -----
SromcurvFC0100 -----
Scurvidens7123 -----
Scurvidens9901 -----
SmontremotaFC0101 -----
SmontremotaHD10174 -----
SmontmontHD10176 -----
Slanata7108 -----
SLanataHD10188 -----
SromromFC0103 -----
Smontmont9623 -----
Smontmont9935 -----
MarrubiumsspFC02 TAAACAAGGAATCCCTATTTGCATAATTCACAATCAATAG-----CTGAAGGACT
S7251 -----TAGCATCCCATCTTCATTTTATAGGATAACGTAGTCTCTGTCAATTAAGGGAC
S10091 -----TAGCATCCCATCTCCATTTTATAGGATAACAGTAGTCTCTGTCAATTAAGGGAC
: * * : * * . * * . : * * * : . : * * : * * .

FC01stachys AGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SromcurvFC0100 AGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
Scurvidens7123 AGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
Scurvidens9901 --GAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SmontremotaFC0101 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SmontremotaHD10174 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SmontmontHD10176 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
Slanata7108 --GAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SLanataHD10188 --GAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
SromromFC0103 --GAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
Smontmont9623 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
Smontmont9935 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTAT
MarrubiumsspFC02 TGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCT----CTTTAATTGACAGATACTCCAGTCATCTAAT
S7251 AGGCGGGATTACAAAGTTTTCTCCTGCATCTATTGATTATTGATTGTGAATATTCAAAT

```

```

S10091          AGGCGGGATTACAAAGTTTTCTCCAAGTCCTG-CATATATTGATTGTGAATTATTCAAAT
                *.*.:.: : :.:.:* * **:   **   .: : * :** : * . * * :** :**

FC01stachys    AAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SromcurvFC0100 AAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
Scurvidens7123 AAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
Scurvidens9901 AAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SmontremotaFC0101 AAAATGGAGGTGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SmontremotaHD10174 AAAATGGAGGTGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SmontmontHD10176 AAAATGGAGGTGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SLanata7108     AAAATGAAGATGGGATGCTACGTTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SLanataHD10188 AAAATGAAGATGGGATGCTACGTTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
SromromFC0103  AAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
Smontmont9623  AAAATGGAGGTGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
Smontmont9935  AAAATGGAGGTGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAG
MarrubiumsspFC02 S7251          AGG-----GATTCCTTAAGGGGGGTGGGATAACTATTTTAGGAGTCAAATA
S10091          AGG-----GATTCCTTAAGGGGGATGGGATAACTATTTTAGGAGTCAAATA
                *..                *.*:* **..*.. **   *****.:.: *.* ** :.*.:

FC01stachys    GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATA-----
SromcurvFC0100 GACTGAAAATCCTCGTGTCCC-----
Scurvidens7123 GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATAAGGGCTTTTTTGGGGTTTGGGACTTGA
Scurvidens9901 GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATA-----
SmontremotaFC0101 GACTGAAAATCCTCGTGTCC-----
SmontremotaHD10174 GACTGAAAATCCTCGTGTCC-----
SmontmontHD10176 GACTGAAAATCCTCGTGTCC-----
SLanata7108     GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATGGGGGCGGGCGGGGGCTGGGTACCC
SLanataHD10188 GACTGAAAATCCTCGTGTCC-----
SromromFC0103  GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATAGGGCTTTTTTGGGGTGAGGG-----TTT
Smontmont9623  GACTGAAAATCCTCGTGTCCACAGTTCAAATAGGCATTCCTTAAGGTGGGATGACATAACT
Smontmont9935  GACTGAAAATCCTCGTGTCCCATGGTCCCGCAGGATTCGCCTGG---GGGTGACATTCT
MarrubiumsspFC02 S7251          GACTG-----
GGCT-----
S10091          GGCT-----
                *..**

FC01stachys    -----
SromcurvFC0100 -----
Scurvidens7123 ACCATCGGAGTCAATAGG--CTTTTTTGACATACATGCACCTGAACCCCCGT-----
Scurvidens9901 -----
SmontremotaFC0101 -----
SmontremotaHD10174 -----
SmontmontHD10176 -----
SLanata7108     CCATAG-AAGTCAAATAGGCTTTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAACCACATTCTTTTTT
SLanataHD10188 -----
SromromFC0103  GATTAT-AGGCGTTAATCGGCTTTTTTGGGATAGAGGGACTTGAACCAAAGCATGTCAA-
Smontmont9623  AATTTAGGAGTCAAATAGGCTTTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAACCACAGG-----
Smontmont9935  CTTTAAGGAGTCAAATAGGCTTTTTTGGGGATAGACGCACCTTGAACCACAGCGGGC---
MarrubiumsspFC02 S7251          -----TTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAAC-----
S10091          -----TTTTTGGGGATAGAGGGACTTGAACCA-----

FC01stachys    ---
SromcurvFC0100 ---
Scurvidens7123 ---
Scurvidens9901 ---
SmontremotaFC0101 ---
SmontremotaHD10174 ---
SmontmontHD10176 ---
SLanata7108     CAC
SLanataHD10188 ---
SromromFC0103  ---
Smontmont9623  ---
Smontmont9935  ---
MarrubiumsspFC02 S7251          ---
S10091          ---

```

5.3. Çalışılan Taksonların *ndhF* Bölgesi Dizi Hizalaması

```

FC1STACHYS          -TTGATAACCGCCCA--TTATATGTT--CG-CATTA--TTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
Scurvidens9901     -TTGATAAC--GCAC--TTATATGTT--CG-CATTA--TTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
SromromFC0103      -----TATGTTTCG-CATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
S.HD7123           -----CATT--TTATATGTTTCG-CATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
SromanacurvFC0100  -----GT--TTATATGTTTCG-CATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
Sromrom7251        TGGATTAACCGCCAT--TTATATGTT--CG-CATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
SlanataHD10188     -----TATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
Slanata            TGTGATAACCGCCCCATTATATGTT--CG-CATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
SmontmonthHD10176 -----CTTACCTTTTGAGGGGCATTT
S.HD9935          -----GATTTTATATGTTTCG-CATTTATTTA-CTTACCTTTTGAGGGGCATTT
Smontmont9623     -----TTTATTTA-CTTACCTTTTGAGGGGCATTT
SmontmonthHD10174 -----CCCCTTATATGTTTCG-CATTTATTTTACTTACCTTTTGAGGGGCATTT
SmontremFC0101    -----TGATTATATGTTTCGGCATTATTACTTTACCTTTTGAGGGGCATTT
Scurvidens10091   -----CCCTTATATGTTTCG--CATTTATTTA--CTGACTTTTGAGGGGCATTT
Marrubimfc02      -----CCAATTTATTTA-CTTACTTTTGAGGGGCATTT
*      *****

```

```

FC1STACHYS          AAACATTCATTTCCAAA--TTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
Scurvidens9901     AA-CATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
SromromFC0103      AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
S.HD7123           AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
SromanacurvFC0100 AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
Sromrom7251        AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
SlanataHD10188     AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATGCCTATTTCTATTCCATATCCAT
Slanata            AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATGCCTATTTCTATTCCATATCCAT
SmontmonthHD10176 AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGAAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
S.HD9935          AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGAAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
Smontmont9623     AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
SmontmonthHD10174 AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGAAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
SmontremFC0101    AAACATTCATTTCCAAAATTATAGTGGAAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
Scurvidens10091   AAGCATCCATTTCCAAAATTATAGTGGCAACCAAAAATACCTATTTCTATTCCATATCCAT
Marrubimfc02      AA-CATTCATTTCCAAAATTATAGTGGCAAGGAAAATACCTCTTTCTATTCCATATCCAT
** ** * ***** ** ***** ** ***** ** ***** ** *****

```

```

FC1STACHYS          ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
Scurvidens9901     ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SromromFC0103      ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
S.HD7123           ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SromanacurvFC0100 ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
Sromrom7251        ATGGGGCAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SlanataHD10188     ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
Slanata            ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SmontmonthHD10176 ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
S.HD9935          ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
Smontmont9623     ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SmontmonthHD10174 ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
SmontremFC0101    ATGGGGTAAAGGGTATTCCAAAAGAATTAACCAAAAATTCGAGTTTATTA AAAAACGAAAG
Scurvidens10091   ATGGGGTAAAGGGTACTCAAAAAGAATTAACCAAAAATTTTGATTTATTAAGAAATGAAAG
Marrubimfc02      ***** ***** ** *****

```

```

FC1STACHYS          TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
Scurvidens9901     TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SromromFC0103      TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
S.HD7123           TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SromanacurvFC0100 TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
Sromrom7251        TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SlanataHD10188     TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
Slanata            TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SmontmonthHD10176 TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
S.HD9935          TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGAAAGACATATCGAAGTAATGA
Smontmont9623     TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SmontmonthHD10174 TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
SmontremFC0101    TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
Scurvidens10091   TTCTTCTTTTTTTTCGAAAAAGACATATCGAAGTAATGA-----
Marrubimfc02      TTCTCCTTTTTTGTGGAAAAAGACATGTCGAAGTGAATGA-----
**** ***** * *****

```

```

FC1STACHYS          TAATGCAATAAAAAAGAGAGGGTGGACGGGCGCCCTTTTATTAATATTTCTCCATTTTAA
Scurvidens9901     TAATGCAATAAAAAAGAGAGGGTGGACGGGCGCCCTTTTATTAATATTTCTCCATTTTAA
SromromFC0103      TAATGCAATAAAAAAGAGAGGGTGGACGGGCGCCCTTTTATTAATATTTCTCCATTTTAA

```


Smontmont9623 TTTCAAAGGATTCGGAAAGTTGGTATGAATTTTTTCAAAGATGCTCTTTTTTCAGTTAGTAT
SmontmontHD10174 TTTCAAAGGATTCGGAAAGTTGGTATGAATTTTTTCAAAGATGCTCTTTTTTCAGTTAGTAT
SmontremFC0101 TTTCAAAGGATTCGGAAAGTTGGTATGAATTTTTTCAAAGATGCTCTTTTTTCAGTTAGTAT
Scurvidens10091 TTTCAAAGGATTCGGCAAGTTGGTATGAATTTTTTCAAAGATGCTCTTTTTTCAGTTAGTAT
Marrubimfc02 GTCAAAGGATTCATCAAGTTGGTATGAATTTTTTCAAAGATGCTCTTTTTTCAGTTAGTAT
***** ** *****

FC1STACHYS AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
Scurvidens9901 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
SromromFC0103 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
S.HD7123 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
SromanacurvFC0100 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
Sromrom7251 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
SlanataHD10188 AGCTTCTTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
Slanata AGCTTCTTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
SmontmontHD10176 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
S.HD9935 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
Smontmont9623 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
SmontmontHD10174 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
SmontremFC0101 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCAGTTATTCCTCTTTCAA
Scurvidens10091 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
Marrubimfc02 AGCTTATTTTCGGAATATTTCTAGCATCCTTTTTATATAAACCCATTTATTCCTCTTTCAA
***** ** *****

FC1STACHYS AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Scurvidens9901 AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SromromFC0103 AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
S.HD7123 AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SromanacurvFC0100 AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Sromrom7251 AAATTTTCGAGTTCATAAATTTATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SlanataHD10188 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Slanata AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SmontmontHD10176 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
S.HD9935 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Smontmont9623 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SmontmontHD10174 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
SmontremFC0101 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Scurvidens10091 AAATTTTCGAGTTCATAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
Marrubimfc02 AAATTTTCACCTTACTAAATTCATTTGTGAAGTTAGGTCCGAAAAGAAACCGTTGGGATAA
***** * ** *****

FC1STACHYS AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Scurvidens9901 AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SromromFC0103 AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
S.HD7123 AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SromanacurvFC0100 AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Sromrom7251 AATTATAAACCAACCTGTATAATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SlanataHD10188 AATTATAAACCAACCTTTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Slanata AATTATAAACCAACCTTTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SmontmontHD10176 AATTATAAACCAATCTCTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
S.HD9935 AATTATAAACCAATCTCTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Smontmont9623 AATTATAAACCAATCTCTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SmontmontHD10174 AATTATAAACCAATCTCTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
SmontremFC0101 AATTATAAACCAATCTCTATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Scurvidens10091 AATTATAAACCAACCTCTACGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
Marrubimfc02 AATTATAAACCGCCCTATATGATTTGGTCATATAATCGTGCTTATATTGATTCCTTTTTTATAC
***** ** ** *****

FC1STACHYS AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
Scurvidens9901 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SromromFC0103 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
S.HD7123 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SromanacurvFC0100 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
Sromrom7251 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SlanataHD10188 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
Slanata AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SmontmontHD10176 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
S.HD9935 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
Smontmont9623 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SmontmontHD10174 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
SmontremFC0101 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
Scurvidens10091 AATATCCTTTTTTCAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGATG
Marrubimfc02 AATATCCTTTTTTCGAGGGGGTAAAGAGAGTTGGCCCAATTAACGCATTTTTTTGATAGACG
***** * *****

FC1STACHYS	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTTGAGTTCTTTTTGGAGAAGGATCAA
Scurvidens9901	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTTGAG-----
SromromFC0103	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTTGAGTTT-----
S.HD7123	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTTGAGTTCTTTTTGGAGAAGGTAT
SromanacurvFC0100	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTGA-----
Sromrom7251	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGG-GTCTTGAGTTCTTTTTGGAGAAGTATAA
SlanataHD10188	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTTGAGTTCTTTTTGGAGAAG-----
Slanata	GGTAATTGATGGAATTACGAA-GGAGTTGGG-----
SmontmontHD10176	GGTAATTGATGGAATCACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTACTTTTTGGAGAAGGTAT
S.HD9935	GGTAATTGATGGAATCACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTACTTTTTGGAGAAGGTAT
Smontmont9623	GGTAATTGATGGAATCACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTACTTTTTGGAGAAGGTAT
SmontmontHD10174	GGTAATTGATGGAATCACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTACTTTTTGGAGAAGGTAT
SmontremFC0101	GGTAATTGATGGAATCACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTACTTTTTGGAGAAGGTAT
Scurvidens10091	GGTAATTGATGGAATTACGAATGGAGTTGGTGTCTGAGTTTATTTTTGGAGAAGGATC
Marrubimfc02	AGTAATTGATGGAAT-ACGAATGAG-----
	***** * * * * *

FC1STACHYS	A-----
Scurvidens9901	-----
SromromFC0103	-----
S.HD7123	CAAATATTGTGTAGGGGGGAA
SromanacurvFC0100	-----
Sromrom7251	ATATGAGGGGGCCC-----
SlanataHD10188	-----
Slanata	-----
SmontmontHD10176	C-----
S.HD9935	CAAAATTTTGAAGGGGGGA--
Smontmont9623	-----
SmontmontHD10174	-----
SmontremFC0101	-----
Scurvidens10091	AAAAATGTAGGGGG-----
Marrubimfc02	-----

6. KAYNAKLAR

- [1] Swofford, D.L., "Paup. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods), Version 4.Sinauer", (2002).
- [2] Heywood,V.H., "Flowering Plants of The World", BT Batsford Ltd., London (1996) Pp:239.
- [3] Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K., "Flora of Turkey and Aegean Islands", *Edinburg University Press*, Edinburg, **10**, (1988) 203.
- [4] Duman, H., *Sideritis* L., "Flora of Turkey and The East Aegean Islands (supplement II) ", (Ed. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Baser, K.H.C.), *Edinburg University Press*, Edinburg, **11**, (2000) 201-204.
- [5] Kırimer N., Tabanca N., Tümen G., Duman H., Başer K.H.C., "Composition of The Essential Oils of Four Endemic *Sideritis* Species From Turkey", *Flavour and Frangrance Journal*, **14**, (1999) 421-425.
- [6] Öztürk Y., Aydın S., Başer K.H.C., "Effects of Extracts From Certain *Sideritis* Species on Swimming Performance in Mice", *Phytother. Res.*, **10 (1)**, (1996) 70-73.
- [7] Tunalier Z., Öztürk N., Koşar M., Başer K.H.C., Duman H., Kırimer N., *Chem Nat. Prod.*, **40(3)**, (2004) 206-210,
- [8] Ezer N., Usluer G., Güneş I., Erol K., *Fitoterapia*, **65**, (1994) 549.
- [9] Mummenhoff, K., Franzke, A. and Koch, M., "Molecular phylogenetic of *Thlaspi* s.l. (*Brassicaceae*) Based on Chloroplast DNA Restriction Site Variation and Sequences of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA" *Cand. J. Botany*, **75**, (1997) 469–487.
- [10] Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K., Hasebe, M., "Molecular Phylogeny of *Coriaria*, with Special Emphasis on the Disjunct Distribution", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14/1**, (2000) 11.
- [11] Kellogg, E.A., "Who's Related to Whom? Recent Results from Molecular Systematic Studies", *Current Opinion in Plant Biology*, **1/2**, (1998) 149.

- [12] Davis, P.H., "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", University of Edinburg Press, Edinburg, **7**, (1982) 297.
- [13] Metcalfe, C.R., Chalk, L., "Anatomy of the Dicotyledones", Oxford University Press, Londra, **2**, (1950) 1041.
- [14] Duman H., Kırmıer N., Ünal F., Güvenç A., Şahin P., "Türkiye *Sideritis* L. Türlerinin Revizyonu", Proje No: TBAG-1853 (199T090),TÜBİTAK, (2005).
- [15] Kırmıer N., Tabanca N., Ozek T., Tümen G., Başer K.H.C., "Essential Oils of Annual *Sideritis* Species Growing in Turkey", *Pharm. Biol.*, **38** (2), (2000) 106-111.
- [16] Flamini G., Cioni P.L., Morelli I., Maccioni S., Tomei P.E., "Characterization of The Volatile Fraction of a *Sideritis romana* Population From Montemarcello (Eastern Liguria)", *Journal of Essential Oil Research*, vol. **58**, num. 3, pp 239, (1995) tot.pag 0
- [17] Ertan A., Azcan N., Demirci B., Başer K.H.C., "Fatty Acid Composition of *Sideritis* Species", *Chem. Nat. Compd.*, **37** (4), (2001) 301-303.
- [18] Saitou N., İmanishi, T., "Relative efficiens of the Fict-Margoliash, Maximum Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution and Neighbour-Joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree", *Mol Biol Evol*; **6**, (1989) 514-525.
- [19] Freeman, S. and Herron, J. C., "Evrimsel Analiz" Çıplak, B., Basıbüyük. H. H., Karaytuğ. S. ve Gündüz. 9. (eds.), Palme Yayıncılık, 28-29, (1999) 438-449.
- [20] Mount D.W., Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York,. Chapter 3. Alignment of pairs of sequences; (2001) 52-137.
- [21] Zhang, D., Sang, T., "Physical Mapping of Ribosomal Rna Genes in Peonies (*Paeonia*, *Paeoniaceae*) by Fluorescent in Situ Hybridization: Implications for Phylogeny and Concerted Evolution", *American Journal of Botany*, **86**, (1999) 735.
- [22] Bennett, M.D.; and Leitch, I.J.: "Plant DNA C-value database." Release 2.0. *Royal Botanical Gardens* (2003) , Kew, West Sussex, U.K.
- [23] <http://www.els.net>. (01/02/2011)

- [24] Dhar, M.K., Friebe, B., Kaul, S., Gill, B., "Characterization and Physical Mapping of Ribosomal Rna Gene Families in Plantago", *Annals of Botany*, **97/4**, (2006) 54.
- [25] Sharma, S., Rustgi, S., Balyan, H.S., Gupta, P.K., "Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences of Ribosomal DNA of Wild Barley and Their Comparison With ITS sequences in Common Wheat", *Barley Genetics Newsletter*, **32**, (2000) 38.
- [26] Baldwin, B.G., "Phylogenetic Utility of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: An Example from the Compositae", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **1/1**, (1992) 3.
- [27] Gültepe, M., Kuzey Anadolu Bölgesi'nde doğal olarak yayılış gösteren bazı *Hieracium* L. (*Asteraceae*) taksonlarının nrDNA ITS Bölgeleri bakımından karşılaştırılması, Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, 2007.
- [28] Dayle, E., Saar, N.O.P., Sorensen, P.D., Duvall, M.R., "Angiosperm DNA Contamination by Endophytic Fungi: Detection and Methods of Avoidance", *Plant Molecular Biology Reporter*, **19**, (2001) 249.
- [29] Anonim; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mitokondri> (02/12/2011)
- [30] Kartavtsev, Y.P., Jung, S.O., Lee, Y.M., Byeon, H.K., Lee, J.S., "Complete Mitochondrial Genome of the Bullhead Torrent Catfish, *Liobagrus Obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): Genome Description and Phylogenetic Considerations Inferred from the Cyt B and 16s Rna Genes", *Gene*, **396/1**, (2007) 13.
- [31] Mishmar, D., Ruiz-Pesini, E., Mondragon-Palomino, M., Procaccio, V., Gaut, B., Wallace, D.C., "Adaptive Selection of Mitochondrial Complex I Subunits During Primate Radiation", *Gene*, **378/11**, (2006) 111.
- [32] Gu, G., Deutch, A.Y., Franklin, J., Levy, S., Wallace, D.C., Zhang, J., "Profiling Genes Related to Mitochondrial Function in Mice Treated with N-Methyl-4- Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **308/1**, (2003) 197.
- [33] Wallace, D.C., "Mitochondrial Defects in Cardiomyopathy and Neuromuscular Disease", *Am. Hearst J.*, **139**, (2000) 70.
- [34] Melov, S., Coskun, P.E., Wallace, D.C., "Mouse Models of Mitochondrial Disease, Oxidative Stress, and Senescence", *Mutation Research/DNA Repair*, **43/3**, (1999) 233.

- [35] Wallace, D.C., "A Mitochondrial Paradigm of Metabolic and Degenerative Diseases, Aging, and Cancer: A Dawn for Evolutionary Medicine", *Annual Review of Genetics*, **39**, (2005) 359.
- [36] Soltis, P. S.; Soltis, D. E.; Doyle, J. F.: "Molecular Systematics of Plants." *Springer*, ISBN 0412022419,(1992).
- [37] www.edoc.huberlin.de. (20/02/2011)
- [38] Small, R. L.; Cronn, R. C.; Wendell, J. F.: "Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants." *Australian Systematic Botany*, **17**, (2004) 145-170.
- [39] Anonim; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kloroplast> (22/02/2011)
- [40] Clegg, M. T.; Gaut, B. S.; Learn, G. H.; Morton, B. R.: "Rates and patterns of chloroplast DNA evolution." *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* Vol. **91**, (1994) 6795-6801.
- [41] Sugiura, M.: "The chloroplast genome." *Essays Biochem.* **30**, (1995) 49–57.
- [42] Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nicrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Sweere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.M., Gillespie, L.J., Kress, W.J., Sytsma, K.J., "Angiosperm Phylogeny Inferred from 18 S Ribosomal DNA Sequences", *Ann. Miissouri Bot. Garden*, **84**, (1997) 381.
- [43] Pillay, M., Mazzella, C., "Chloroplast Genome Differences between *Paspalum Dilatatum* Poir and the Related Species *P. Notatum* Flugge", *Theoretical and Applied Genetics*, **95**, (1997) 696.
- [44] Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., and Bouvet J., "Universal primers for amplication of three non-coding regions of cloroplast DNA". *Plant Molecular Biology*, **17**, (1991) 1105-1109.
- [45] Gielly, L., Taberlet, P., " A phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequences", *Botanical Journal of the Linnean Society*, **120**, (1996) 57-75.
- [46] Gielly, L., Taberlet, P., "The use of chloroplast DNA to resolce plant phylogenies: non-coding versus *rbcL* sequences", *Molecular Biology and Evolution*, **11**, (1994) 769-777.

- [47] Kim, K.J., Jansen, R. K., “*ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family”, *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A*, **92**, (1995) 10379-10383.
- [48] Olmstead, R.G., Reeves, P.A., “Evidence for the polyphyly of the *Scrophulariaceae* based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* sequences”, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **82**, (1995) 176-193.
- [49] Scotland, R.W., Sweere, J.A., Reeves, P.A., Olmstead, R.G., “ Higher level systematics *Acanthaceae* determines by chloroplast DNA sequences”, *American Journal of Botany*, **82**, (1995) 266-275.
- [50] Olmstead, R.G., Sweere, J.A., “Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae”, *Systematic Biology*, **43** (1994) 467-487.
- [51] Neyland, R., Urbatsch, L.E., “Phylogeny of subfamily Orchidaceae inferred from *ndhF* chloroplast gene sequences”, *American Journal of Botany*, **83**, (1996) 1195-1206.
- [52] Clark, L.G., Zhang, W. And Wendel, J.F., “a phylogeny of the grass family (*Poaceae*) based on *ndhF* sequence data”, *Systematic Botany*, **20**, (1995) 436-460.
- [53] Saiki R. K., Gelfand D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Hiquchi, R., Horn, G.T., Mullis K.B., and Erlich, H.A.”Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase”, *Science*, **239**, (1998) 487-491.
- [54] Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., "Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms", *Theor Appl Genet.*, **98**, (1999) 411.
- [55] Amane, M., Lumaret, R., Hany, V., Ouazzani, N., Debain, C., Vivier, G., Deguilloux, M. F., "Chloroplast-DNA Variation in Cultivated and Wild Olive (*Olea Europaea L.*)", *Theor Appl Genet*, **99**, (1999) 133.
- [56] Rosa, R.I., Angiolillo, A., Guerrero, C., Pellegrini, M., Rallo, L., Besnard, G., Berville, A., Martin, A., "A First Linkage Map of Olive (*Olea europaea L.*) Cultivars Using RAPD, AFLP, RFLP and SSR Markers", *Theor Appl Genet*, **106**, (2003) 1273-1282.
- [57] Yıldırım, A., Kandemir, N., Genetik Markörler ve Analiz Metodları, Konya. Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları, Bölüm **23**, (2001) 112-159.

- [58] Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., "DNA Polimorphism Amplified By Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers", *Nucleic Acids Research*, Vol **18**, (1990) 6531-6535.
- [59] Welsh, J., McClelland, M., "Fingerprinting Genomes Using PCR With Arbitrary Primers", *Nucleic Acids Research*, Vol **18**, (1990) 7213-7218.
- [60] Hillis, D. M., Moritz, C., *Molecular Systematics*, Sinauer Associates, Inc. Publishers, USA (1990).
- [61] Başbüyük, H. H., Bardakçı, F., Belshaw, R., Quicke, D. L. J., *Phylogenetic Systematics*, Önder Matbaa, Sivas, (2000).
- [62] Welsh, J., Petersen, C. And "Polimorphisms Generated By Arbitrarily Primed PCR In The Mouse: Application To Strain Identification And Genetic Mapping", *Nucleic Acids Research*, Vol **19**, (1991) 303-306.
- [63] Wough, R., Powell, W., "Using RAPD Markers for Crop Improvement", *TIBTECH*, **101**, (1992) 186-191.
- [64] Rafalski, A., Tingey, S.V., Williams, J.G.K., "RAPD Markers: A New Technology for Genetic Mapping and Plant Breeding", *AgBiotech News and Information*, **3**, (1991) 645-648.
- [65] Rafalski, A., Tingey, S.V., "Genetics Diagnostics in Plant Breeding: RAPDs Microsatellites and Machines", *Trend Genet*, **93(8)**, (1993) 275-280.
- [66] Beaumont, V.H., Mantet, J., Rocheford, T.R., Widholm, J.M., "Comparision of RAPD and RFLP Markers for F2 Generations in Maize (*Zea mays* L.)", *Theor Appl Genet*, **93**, (1996) 606-612.
- [67] Waugh, R., Poweil, W., "Using RAPD Markers for Crop Improvement", *Focus*, **10**, (1992) 186-191.
- [68] Mathieu-Daudé, F., Ralph D. and McClelland M., "Arbitrarily Primed PCR Fingerprints: Laboratory Methods for the Detection of Mutations and Polymorphisms in DNA", ed. Taylor, G. R., CRS Press, Boca Raton, (1997).
- [69] Tingey, S.V., Del Tufa, J.P., "Genetic Analysis With Random Amplified Polimorphic DNA Markers", *Plant Physiol.* **101**, (1993) 349- 352.
- [70] Halldén, C., *Characterization and Use of a Multiplex PCRbased System: Random Amplified Polymorphic DNA*, Ph.D. Thesis, Department of Genetics Lund University, Lund, (1998).

- [71] Zabeau, M. and Vos P."Selective Restriction Fragment Amplification: a general method for DNA fingerprinting" European patent office, publication 0 534 858 A1, (1993) bulletin 93/13.
- [72] Walton, M."Molecular markers: which ones to use?"Seed World, July, (1993) p:23-29.
- [73] Saghai-Marroof, M.A., Biyashev, R.B., Yang, G.P., Lhang, Q. and Allard, R.W., Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley species diversity, chromosomal locations and population dynamics, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **91**, (1994) 5466-5470.
- [74] Yıldırım, A. ve Kandemir, N."Genetik markörler ve analiz metodları" Bitki Biyoteknolojisi II, (2001) 351-361.
- [75] Gülbitti Onarıcı S. "Protein and DNA in Systematic Biology", Turkish Journal Of Biology, **27**, (2003) 47.
- [76] Lewin B."Simple Sequence DNA", Genes VI. Chapter 25 Oxford University Press Oxford, New York, Tokyo. (1997) 727-741.
- [77] Strachan T., Read A.P. Human Molecular Genetics. BIOS Scientific Publishers Limited Oxford. Chapter 10. (1996) 252-258.
- [78] Griffith A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., Lewontin R.C. "An Introduction to Genetic Analysis" W.H. Freeman & Co. New York, (2000).
- [79] Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B., "A Plant DNA Miniprep: Version II", *Plant Molecular Biology Reporter*, **1/4**, (1983) 19.
- [80] Kress, W.J., Liu, A.Z., Newman, M., Li, Q.J., "The Molecular Phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A Complex and Polyphyletic Genus of Gingers", *American Journal of Botany*, **92**, (2005) 167.
- [81] Çıplak B., Başbüyük H.H., Filogenetik sistematik ders notları
- [82] Berry, V., Gascuel, O., Caraux, G., "Choosing the Tree Which Actually Best Explains the Data: Another Look at the Bootstrap in Phylogenetic Reconstruction", *Computational Statistics & Data Analysis*, **32/3-4**, (2000) 273.