

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

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SILENE* L. CİNSİNİN *AURICULATAE* VE  
*BRACHYPODEAE* SEKSIYONLARINA AİT TÜRLERİN ITS nrDNA  
DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EMRE SEVİNDİK**

**Balıkesir, Temmuz-2011**

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

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SILENE* L. CİNSİNİN *AURICULATAE* VE  
*BRACHYPODEAE* SEKSIYONLARINA AİT TÜRLERİN ITS nrDNA  
DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EMRE SEVİNDİK**

**Balıkesir, Temmuz-2011**

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

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SILENE* L. CİNSİNİN *AURICULATAE* VE  
*BRACHYPODEAE* SEKSİYONLARINA AİT TÜRLERİN ITS nrDNA  
DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMRE SEVİNDİK

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Sınav Tarihi: 15.07.2011

Jüri Üyeleri: Yard. Doç. Dr. Fatih COŞKUN (Danışman- BAÜ)

Prof. Dr. Güleendam TÜMEN (BAÜ)

Yard. Doç. Dr. Ekrem AKÇİÇEK (BAÜ)

Balıkesir, Temmuz-2011

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE YETİŞEN *SILENE* L. CİNSİNİN *AURICULATAE* VE *BRACHYPODEAE* SEKSIYONLARINA AİT TÜRLERİN ITS nrDNA DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİ

Emre SEVİNDİK

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

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

Balıkesir,2011

Bu çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden toplanan *Silene* L. (Caryophyllaceae) cinsine ait 17 türün nrDNA ITS bölgelerinin moleküler sistematik analizi yapılmıştır.

Arazi çalışmasında toplanan örneklerin önce tanımı yapıp daha sonra her örnek herbaryum haline dönüştürülmüştür. Daha sonra örneklerin ITS profillerinin belirlenmesi için her türün yaprak örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Örneklerin daha sonra ITS bölgeleri uygun ITS4 ve ITS5A primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmıştır. Çoğalan DNA bölgelerinin baz diziler elde edilip işlenerek PAUP programı ile filogenetik analiz yapılmıştır. Değerlendirme sonucu çalışılan türler arası akrabalık ilişkilerini ortaya koyan Parsimoni, NJ, UPGMA, Bootstrap ağaçları elde edilmiştir.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler ışığında türler arasında filogenetik ilişkinin açıklanmasında ITS dizin analizlerinin daha güvenilir bilgiler ortaya koyduğu sonucuna varılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELELER:** ITS, nrDNA, *Silene*, PCR, DNA Dizi Analizi, Parsimoni

## ABSTRACT

### MOLECULAR SYSTEMATIC RELATION ITS nrDNA OF *SILENE* L. TAXA BELONGING *AURICULATAE* AND *BRACHYPODEAE* SECTION SPREAD IN TURKEY

EMRE SEVİNDİK

Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology

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

Balıkesir-Turkey, 2011

In this study, 17 types of *Silene* L. (Caryophyllaceae) species which were collected from different provinces of Turkey were subjected to systematic molecular analysis for their nrDNA ITS sequences.

Describe were made for species gathered during the field study and then each sample was transformed into herbarium state. DNA isolation was performed in order to determine the ITS profiles of the samples. They were duplicated through polymerase chain reactions(PCR) using ITS sections with appropriate ITS4 and ITS5 primers. Base sequence analysis of duplicated DNA sections was performed and they were evaluated through PAUP. As a result of the study, Parsimoni, NJ, UPGMA, Bootstrap analyses were performed to show the relationships between and among the studied taxa.

In the light of the data we obtained from this study, it was concluded that ITS sequence analysis provides more reliable data when it comes to explaining the phylogenetic relationships among the studied taxa.

**KEYWORDS:** ITS, nrDNA, *Silene*, PCR, DNA Sequencing, Parsimony

<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ANAHTAR KELİMELER</b> .....	<b>ii</b>
<b>KEYWORDS</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Türkiye’de Caryophyllaceae Familyası .....	2
1.1.1 <i>Silene</i> L.Genel Özellikleri .....	2
1.2 Brachypodeae Seksiyonuna Ait Taksonların Biyosistemik Özellikleri .....	3
1.2.1 <i>Silene leptoclada</i> Boiss., Fl. Or. 1, 647 (1867). .....	3
1.2.2 <i>Silene inclinata</i> Hub.-Mor. Notes R.B.G., 28, 3 (1967). .....	4
1.2.3 <i>Silene balansae</i> Boiss. Diagn. ser. 2, 6, 31 (1859).....	5
1.3 Auriculatae Seksiyonuna Ait Taksonların Biyosistemik Özellikleri .....	6
1.3.1 <i>Silene fenlzii</i> Boiss. & Bal., Diagn. ser. 2. 6, 30 (1859). .....	6
1.3.2 <i>Silene argaea</i> Fisch. & Mey. Ann. Sci. Nat. ser. 4, 1: 36 (1854). .....	7
1.3.3 <i>Silene akmaniana</i> Ekim & Çelik, Notes R.B.G., 42: 85 (1984). .....	8
1.3.4 <i>Silene rhynchocarpa</i> Boiss., Diagn. ser. 1, 1, 33 (1843).....	9
1.3.5 <i>Silene araratica</i> Schischk. Izv. Tomsk. Univ. 77 (3): 292 (1927).....	10
1.3.6 <i>Silene brevicaulis</i> Boiss., Diagn., ser. 1, 1, 34 (1843). .....	11

1.3.7 <i>Silene azirensis</i> Coode & Cullen Notes R.B.G. 28: 4 (1967).....	12
1.3.8 <i>Silene ruscifolia</i> (Hub.-Mor. & Reese) Hub.-Mor. Notes R.B.G., 28: 4 (1967).....	13
1.3.9 <i>Silene denizliense</i> Aytaç, Thaiszia-g, J. Bot. (Kosice) 8: 7-11 (1998).....	14
1.3.10 <i>Silene lucida</i> Chowdh. Notes R.B.G., 22: 271 (1957).....	15
1.3.11 <i>Silene glandulosa</i> (Ekim) Özçelik & Kılıç .....	16
1.3.12 <i>Silene caucasica</i> (Bunge) Boiss. Fl. Or. 1: 622 (1867).....	17
1.3.13 <i>Silene erimicana</i> Stapf, Math.-Nat. 51: 284 (1886).....	18
1.3.14 <i>Silene oligotricha</i> Hub.-Mor., Notes R.B.G., 28: 5 (1967).....	19
1.4 <i>Silene</i> Üzerine Yapılan Moleküler Sistematik, Morfolojik ve Anatomik Çalışmalar .....	20
1.5 Moleküler Filogeni.....	21
1.5.1 Moleküler Markırlar .....	21
1.5.2 Moleküler Markırların Özellikleri.....	22
1.5.3 DNA'ya Dayalı Markırlar .....	22
1.5.4 Protein Markırlar .....	22
1.6 Moleküler Filogenide Kullanılan Deneysel Yöntemler .....	23
1.6.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	23
1.6.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	24
1.6.3 SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism) .....	25
1.6.4 SSR (Simple sequence repeats) Mikrosatellitler .....	25
1.6.5 RAPD (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) .....	26
1.6.6 DNA Dizileme .....	26
1.7 Moleküler Filogenide Kullanılan DNA Çeşitleri.....	27
1.7.1 Mitokondri Genomu.....	27
1.7.2 Kloroplast Genomu .....	29
1.7.3 Çekirdek Genomu .....	31
1.8 ITS ( İç Transkribe Olan Boşluklar) .....	32
1.8.1 ITS 'nın Genel Özellikleri.....	33
1.8.2.ITS Bölgesinin Flogenetik Çalışmalarda Kullanılışı .....	34
1.9 Filogenetik Analiz ve Ağaç Oluşturma.....	34
1.9.1 Maximum Parsimony: MP Yöntemi .....	36

1.9.2 Maximum Likelihood:ML Yöntemi .....	37
1.9.3 Uzaklık (Distance) Yöntemi .....	38
1.9.4 Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Programlar.....	39
1.9.5 Dizileme ve Dizi Analizi.....	39
<b>2.MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>40</b>
2.1 Materyal .....	40
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri.....	40
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar .....	42
2.1.3 Genomik DNA izolasyonunda Kullanılan Kimyasallar.....	42
2.1.4 PZR'de ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar .....	43
2.1.5 PZR' de kullanılan Primerler ve Özellikleri .....	44
2.1.6 Agaroz Jel Elektroforez Tamponları.....	44
2.2 Metotve Yöntem.....	45
2.2.1 Cam Malzeme ve Plastik Malzemenin Hazırlanması .....	45
2.2.2 Genomik (gDNA)İzolasyonu .....	45
2.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR).....	46
2.2.4 PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	48
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>49</b>
3.1 ITS Bölgesinin Dizilenmesi .....	49
3.1.1 Verilerin Değerlendirilmesi .....	51
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>52</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>62</b>
<b>6. EKLER.....</b>	<b>75</b>



## KISALTMALAR

### Kısaltma adı Tanımı

<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RAPD</b>	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
<b>AFLP</b>	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>SSR</b>	: Basit Dizi Tekrarları
<b>SSCP</b>	: Tek Zincir Konformasyonel Polimorfizm
<b>ITS</b>	: Internal Transcribed Spacer
<b>cDNA</b>	: Complementary DNA ( Komplementer DNA)
<b>dNTP</b>	: Deoksiribonükleosid trifosfat
<b>ddNTP</b>	: Dideoksiribonükleosid trifosfat
<b>DMSO</b>	: Dimetil Sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>mtDNA</b>	: Mitokondri DNA'sı
<b>Taq</b>	: <i>Thermus aquaticus</i>
<b>gDNA</b>	: Genomik DNA
<b>TE</b>	: Tris-EDTA
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik asit
<b>MP</b>	: Maximum Parsimony
<b>ML</b>	: Maximum Likelihood
<b>PAUP</b>	: Phylogenetic Analysis Using Parsimony
<b>PHYLIP</b>	: The Phylogeny Inference Package
<b>bp</b>	: Baz çifti
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ETS</b>	: External Transcribed Spacer
<b>IGS</b>	: Intergenic Spacer
<b>cpDNA</b>	: Kloroplast DNA

<b>nrDNA</b>	: Nüklear ribozomal DNA
<b>NTS</b>	: Non Transcribed Spacer
<b>ETOH</b>	: Etil alkol/ etanol
<b>rpm</b>	: Dakikadaki Döngü Sayısı
<b>TBE</b>	: Tris-Borikasıit- EDTA
<b>MEGA</b>	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	:Distile Su
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>NaAc</b>	: Sodyum Asetat
<b>L.</b>	: Linne
<b>T<sub>m</sub></b>	: Erime sıcaklıkları
<b>NCBI</b>	: National Center For Biotechnology Information
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum Klorür

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u> <u>Numarası</u>	<u>Adı</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	<i>S. leptoclada</i> 'nın Türkiyede Yayılışı	4
Şekil 1.2	<i>S. inclinata</i> 'nın Türkiyede Yayılışı	5
Şekil 1.3	<i>S. balansae</i> 'nin Türkiyede Yayılışı	6
Şekil 1.4	<i>S. fenzlii</i> 'nin Türkiyede Yayılışı	7
Şekil 1.5	<i>S. argaea</i> 'nin TürkiyedeYayılışı	8
Şekil 1.6	<i>S. akmaniana</i> 'nın TürkiyedeYayılışı	9
Şekil 1.7	<i>S. rhynchocara</i> 'nın Türkiyede Yayılışı	10
Şekil 1.8	<i>S. araratica</i> 'nın Türkiyede Yayılışı	11
Şekil 1.9	<i>S. brevicaulis</i> 'in Türkiyede Yayılışı	12
Şekil 1.10	<i>S. azirensis</i> 'in TürkiyedeYayılışı	13
Şekil 1.11	<i>S. ruscifolia</i> 'nın Türkiyede Yayılışı	14
Şekil 1.12	<i>S. denizliense</i> 'nin TürkiyedeYayılışı	15
Şekil 1.13	<i>S. lucida</i> 'nın Türkiyedeki Yayılışı	16
Şekil 1.14	<i>S. glandulosa</i> 'nın Türkiyedeki Yayılışı	17
Şekil 1.15	<i>S. caucasica</i> 'nın TürkiyedekiYayılışı	18
Şekil 1.16	<i>S. erimicana</i> 'nın Türkiyedeki Yayılışı	19
Şekil 1.17	<i>S. oligotricha</i> 'nın Türkiyedeki Yayılışı	20
Şekil 1.18	Mitokondri Genomu	28
Şekil 1.19	Kloroplast Genomu	30
Şekil 1.20	Çekirdek Ribozomal Dna'sının Tekrarlı Üniteleri	33
Şekil1.21	ITS1 ve ITS2 Bölgelerinin görünümü	34
Şekil 1.22	Filogenetik Ağaç Çizimi	36
Şekil 1.23	Köksüz Ağaç	36
Şekil 2.1	PCR Döngüsü Aşamaları	48
Şekil 3.1	Örneklerin Genomik DNA Görüntüleri	49
Şekil 3.2	Örneklerin Genomik DNA Görüntüleri	50
Şekil 3.3	Örneklerin PZR Görüntüsü	50
Şekil 3.4	Örneklerin PZR Görüntüsü	51
Şekil 3.5	Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 1. Nolu ağaç	52
Şekil 3.6	Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 2. Nolu ağaç	54
Şekil 3.7	Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 3. Nolu ağaç	55
Şekil 3.8	Kes Bağla Algoritması ve Maksimum Parsimoni Kriteri Kullanılarak Elde Edilen 45 Maksimum Parsimoni Ortak Uyumluluk Ağacı( Strict Consensus)	56
Şekil 3.9	UPGMA Ağacı	57
Şekil 3.10	NJ Ağacı	58
Şekil 3.11	Boostrapt Analizi Sonucu Oluşan Ağaç	59
Şekil 3.12	Üzerine Boostrapt Değeri İşlenmiş Kes Bağla ( Branch and Bound) Araştırması Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 1. Nolu ağacı	60

## ÇİZELGE LİSTESİ

<b>Çizelge Numarası</b>	<b>Adı</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1	Çalışılan Türler ve Toplandığı Lokaliteleri	40
Çizelge 2.2	Genomik DNA izolasyonunda Kullanılan Çözeltiler ve Özellikleri	43
Çizelge 2.3	PZR' de ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar	43
Çizelge 2.4	PZR'de Kullanılan Primerler ve Özellikleri	44
Çizelge 2.5	(0,5)x TBE (Tris- Borate) Tampon	45
Çizelge 2.6	PZR Reaksiyonları	48

## ÖNSÖZ

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Fatih COŞKUN 'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

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

Ders ve laboratuvar aşamasında deneyimlerinden ve bilgilerinden yararlandığım değerli hocalarım, Prof. Dr. Feray KÖÇKAR ve Yard. Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca kimyasal ve sarf malzeme konusunda desteğini esirgemeyen değerli hocam Yard. Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a ayrıca teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımız boyunca bir arada hoş vakit geçirdiğimiz, beni her konuda destekleyen ve çalışmalarımda yardımcı olan arkadaşlarım Cüneyt TEZ, Berna SANÖN, Necla ŞAHİN, Nur Gökçe ÇETİNER, Gülsüm GÖREN, Şakir AKGÜN'e teşekkür ederim.

Yaşamımın her anında maddi ve manevi olarak beni destekleyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim, beni bugünlere getiren sevgili anneme sonsuz teşekkürler....

**Balıkesir, 2011**

**Emre SEVİNDİK**

## 1. GİRİŞ

Ülkemiz bitkileri açısından dünyada zengin ülkelerin başında gelmektedir. Bu durum ülkemizin çeşitli iklim tiplerinin etkisi altında olması, coğrafi konumu, jeolojik yapısı, değişik topografyası ve çeşitli toprak gruplarına sahip olması ve üç fitocoğrafi bölgenin birleştiği bir yerde olmasından kaynaklanmaktadır [1]. Ülkemizin bu floristik zenginliği birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Bu konuda yapılmış ilk ve kapsamlı çalışma E. Boissier tarafından hazırlanan 'Flora Orientalis'[2] ve P. H. Davis editörlüğünde Flora of Turkey and East Aegean Islands adlı 9 ciltlik eser yayınlanmıştır. Daha sonra bu esere 2 ek cilt ilave edilmiştir. Bununla beraber Türkiye florası üzerindeki çalışmalar henüz tamamlanmış sayılmamaktadır. Çünkü çok iyi bilinen bölgelerimiz (Ege ve Akdeniz gibi..) yanında yetersiz bilinen bölgelerimiz ve Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu gibi..) bulunmaktadır. Bu bölgelerde floristik çalışmalar hala önemini kaybetmemiştir [3].

Türkiye Florasının hazırlanması esnasında bazı cins ve seksiyonlarda çeşitli taksonomik problemlerin varlığından söz edilmiş ancak sınırlı zaman ve materyal eksikliğinden dolayı pek çok problemin giderilemediği belirtilmiştir [4,5,6,7]. Flora'da belirtilen çeşitli taksonomik problemlerin giderilmesi amacı ile bazı cins ve seksiyonların revizyon çalışmalarının yapılması gerektiği belirtilmiştir [8].

Bu çalışmada bitkilerin moleküler sistematik analizlerini yapmaya yönelik olup, morfolojik, anatomik ve biyokimyasal çalışmalar destekleyerek ileride yapılacak revizyonlara katkı sağlamaktadır. Moleküler sistematik çalışmalar son 25 yılda bayağı gelişmiş olup, bu çalışmalar dizi analizi ve filogenetik analiz yöntemlerinin bulunması ile moleküler sistematığe katkı vermiştir. Sınıflandırma yapılırken morfolojik karakterler yetersiz olduğu zaman filogenetik çalışmalar bu

yetersizliği kapatmaktadır. Filogenetik analiz canlıların coğrafik temelinin bulunmasından canlıların filogenilerini moleküler olarak ispatlamaya çalışmıştır.

Bu alışma *Silene* L. (Caryophyllaceae) cinsine ait Anadolu'da bulunan taksonların moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak ITS dizi analizi yöntemi ile filogenetik ilişkileri belirlenmiş ve elde edilen bilgiler işığında bu cinsin revizyonuna katkı sağlamıştır. Ülkemizde bu cinse ait taksonların moleküler taksonomisine ait herhangi bir çalışma bulunmadığı için bu alışma *Silene* L. (Caryophyllaceae ) cinsi taksonlarına ait sistematik bilgiler elde dilmiştir.

## **1.1 Türkiye'de Caryophyllaceae Familyası**

### **1.1.1 *Silene* L. Genel zellikleri**

*Caryophyllaceae* familyası tek veya çok yıllık bitkilerden (nadiren çalılar) oluşan 86 cinse sahiptir. Bu familya yeleri holoarktik bölgede yerkürede baskın bir Şekilde dağılırken, günümüzde ise familya üyelerinin yayılışı Akdeniz ve İnan-Turan fitocoğrafik bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Familyanın yaklaşık 2200 türünün çoğunluğu açık ve kuru alanlarda yayılış gösteren heliofitlerdir. Bu bitkiler alçak kesim yağmur ormanlarında yayılış göstermezler. Familya yelerinin bazıları da dağlık alanlara özgü olup, bu bitkiler en yüksek rakımlı bölgelerde yayılış gösteren tohumlu bitkiler arasında yer alır [9]. Gövdeleri genelde dik bazen yatık, glandular bazılarında seyrek basit tüylü, nadiren tüysüz, Yapraklar kordat, obovat, lanseolat, linear; Genellikle petiyolat nadiren sesil. Yaprak kenarları düz, kk dişli ve nadiren lobludur. Bazı iekleri kısa ve uzun saplı bazıları ise sapsızdır. Pedisel ve pedinkul genellikle tüylü. Kaliks tps, 3-45 mm10-60 damarlı genellikle glandular veya basit tüylüdür. Kaliks 5 dişli, diş uzunluğu 1-5mm. Petal 5, petal dudağı (limb) genellikle 2 parçalı; petal klavları (sap) tüysüz, nadiren basit tüylü, bazı taksonların limb ve klav'ın birleşme noktalarında iki yan kulakçık (auricles) ve iki dilcik mevcut; koronal pullar genellikle mevcut, değişken Şekilli; petaller çoğunlukla beyaz, kirli beyaz, sarı veya açık pembe; genellikle kaliksten daha uzun. Stilus 3 veya 5;

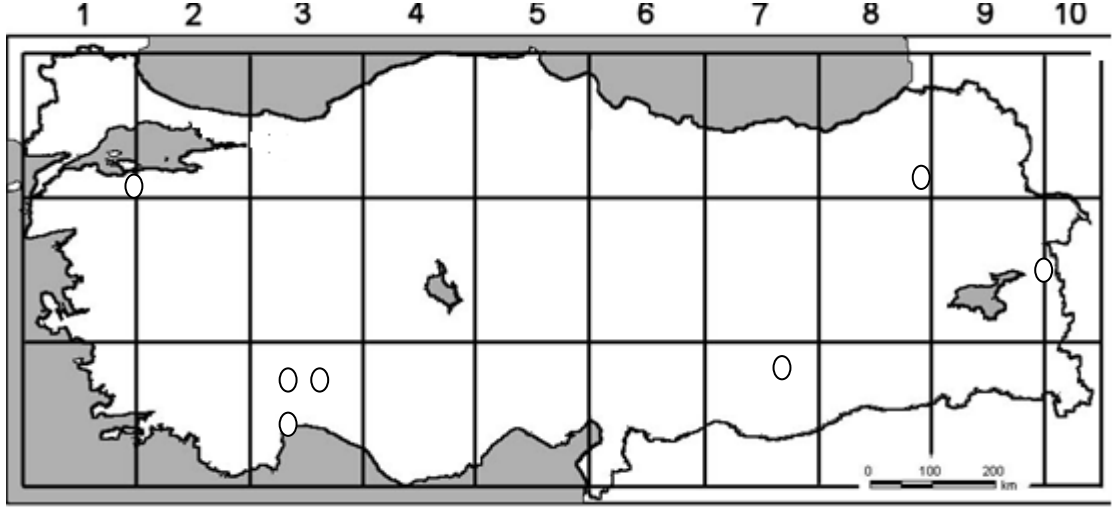
stigma genellikle tüylü. Stamen sayısı 10; 5'i iç tarafta antofora bağlı, 5'i dış tarafta petalin tabanına bağlı; filament genellikle tüysüz, nadiren basit tüylü, anter bağlantısı versatil. Meyve değişken ve gelişmiş alt bölmeli (septa) dentisid kapsül, bazılarında septa olmayabilir; diş sayısı stilus sayısının iki katı kadar. Petaller, stamenler ve ovaryum çiçeğin tabanında sap şeklinde uzun bir yapı oluşturan antofor üzerinden yükselir. Meyvede bu yapı karpofor adını alır [10,11,12,13].

## **1.2 Brachypodeae Seksiyonuna Ait Taksonların Biyosistematik Özellikleri**

### **1.2.1 *Silene leptoclada* Boiss., Fl. Or. 1, 647 (1867).**

Çok yıllık, caespitos dik gövdeli 10-38 cm uzunluğunda olup gövde tabanında tüylerin uzunluğu 0,8-1,3 mm olup yoğunlaşmıştır. Çiçek durumu genellikle 2 çiçekli, 3 çiçekli dikazyum, nadiren tek çiçeklidir. Kaliks 8-15 mm olup seyrek kısa glandular. Gövde yapısına baktığımız zaman otsu gövdelerden alınan enine kesitlerde en dışta bir hücreli sıralı epiderma bulunur. Epiderma üstünü kalın bir kutikula örtmüştür. Epiderma hücrelerinin arasını çok sayıda tüyler işgal etmiştir. Yaprak yapısına baktığımız zaman enine kesit incelendiği zaman yaprağın her iki tarafı sıralı epiderma dokusu ile kaplıdır. Üst epiderma alt epidermaya kıyasla daha büyüktür ve kalındır. Yaprak epiderma hücreleri çok sayıda tüy içerir, mezofil tabakasında bol miktarda kloroplast bulunmaktadır. Yapragın her iki tarafında bulunan stomalar oval yapıda olup anemostiktir.



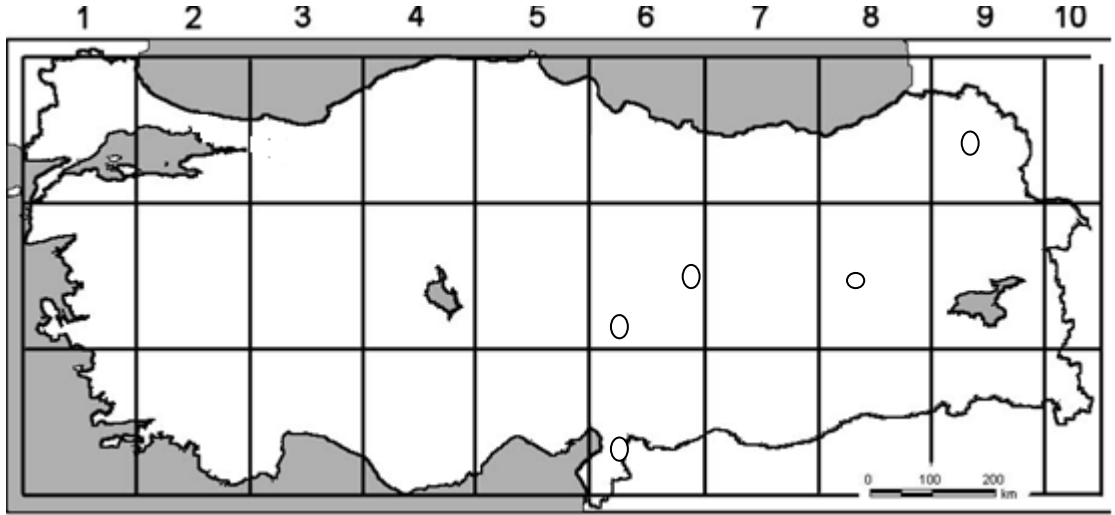


**Şekil 1.1.** *Silene leptoclada*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokaliteleri: Antalya: Kalkan-Elmalı 1150m, Isparta: Sütçüler, Çandır köyü civarı, kayalıklar 450 m, Kahramanmaraş: Başkonuş Dağı, Kuyuluk mevkii, 1150 m, Van: Erek dağı, 2100 m, Burdur: Burdur- Bucak karayolu, 800m, *Pinus nigra* ormanı açıkları, yol kenarları, seyrek kaya kenarları, Çanakkale: Eceabat, Conkbayırı, Kocaçimentepe yolu sağı, 16.5 km, Erzurum: Dumlu dağları, Tortum şelalesi civarı, step, 1100 m [15].

### 1.2.2 *Silene inclinata* Hub.-Mor. Notes R.B.G., 28, 3 (1967).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövdeli olup 20-40 cm uzunluğunda gövdeye sahiptir. Gövde tabanında tüyler az yoğun olup 0,6-0,9 mm olup üst kısma doğru tüy uzunluğu kısalır. Çiçek durumu bileşik dikazyum olup brakteler lanseolattır. Gövde yapısına baktığımız zaman otsu gövde kesiti incelendiği zaman en dışta tek sıralı epiderma tabakası bulunur. Bu tabakayı dıştan kalın kutikula sarmıştır. Epiderma hücrelerinde çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Yaprak yapısına baktığımız zaman tüm yapraklar paralel damarlıdır. Yaprak enine kesiti incelendiği zaman yaprağın her iki tarafı bir sıralı parankima ile kaplıdır. Üst epiderma alt epidermaya oranla daha büyük ve düzenlidir. Mezofil tabakası birbirine benzeyen bol miktarda kloroplast taşıyan parankimalar ile kaplıdır. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval olup, anemostiktir.

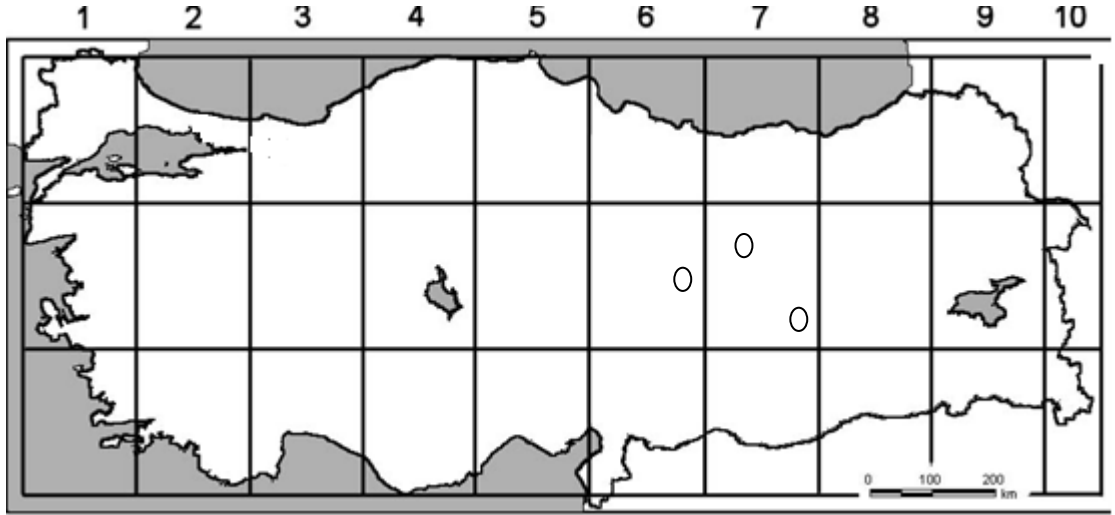


Şekil 1.2 *S. inclinata*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokaliteleri: Kars: Dağpınar kasabası üstleri, volkanik kayalar 2200-2250 m, Kayseri: Pınarbaşı Gürün'e doğru, Gürün'e 25 m kala, kayalık alanlar, 1800 m, Erzurum: Erzincan- Erzurum karayolu, Erzurum'a 80 km kala, step 1900-2000 m, Hatay: Dört Yol Rabat, konglomera kayalıkları [15].

### 1.2.3 *Silene balansae* Boiss. Diagn. ser. 2, 6, 31 (1859).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövdeli olup gövde uzunluğu 35-75 cm, alt kısımdan 3. veya 4. nodyuma kadar olan gövde kısmı tüysüz, geri kalan üst gövde kısmı glandular. Çiçek durumu sıkışık panikula. Brakteler lanseolat. Kaliks 9-17 mm olup tüysüz [14]. Gövde yapısına baktığımız zaman alınan enine kesitlerde en dışta tek hücreli epiderma dokusu bulunur. Epiderma üstünde kalın bir kutikula bulunur. Epiderma altında hemen 18-19 hücre sırasında oluşan korteks dokusu bulunmaktadır. Yaprak yapısına baktığımız zaman yaprağın alt ve üst düzeyinde tek sıralı epiderma dokusu bulunur. Bu doku kutikula kaplıdır. Üst epidermayı kaplayan kutikula daha kalındır. Epiderma hücreleri arasında çok hücreli tüyler bulunur. Mezofil birbirine benzeyen parankimatik hücrelerden oluşur ve bol kloroplastlıdır. Yaprakın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval şekilde olup, anemostiktir.



Şekil 1. 3 *S. balansae*'nin Türkiye'deki Yayılışı

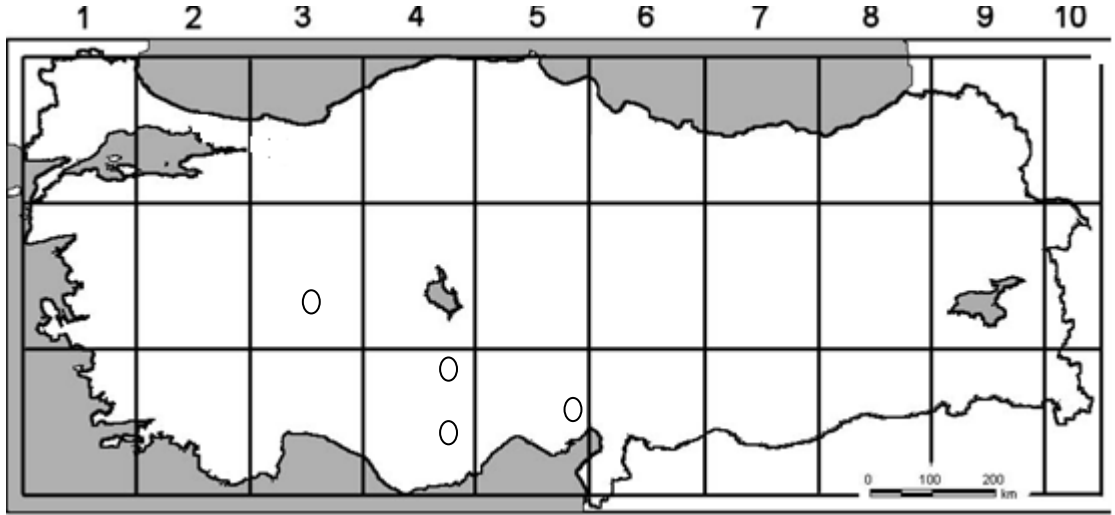
Yurdumuzda yayılış lokaliteleri: Kayseri: Aslan Dağı, alpinik kuşak, Kayseri: Sarız, Binboğa Dağları Ziyaret tepesi mevki üst kesimleri, kayalık yerler, 1950-2300m, Kahramanmaraş: Binboğa Dağı, Büyük Kar Tepe çevresi step, 2450-2700 m[15].

### 1.3 Auriculatae Seksiyonuna Ait Taksonların Biyosistemik Özellikleri

#### 1.3.1 *Silene fenzlii* Boiss. & Bal., Diagn. ser. 2. 6, 30 (1859).

=Syn: *Silene sieberi* Fenzl.

Çok yıllık olup zayıf bir gövde yapısı vardır. Gövde uzunluğu yaklaşık olarak 15- 40 cm arasındadır. Gövde tabanında tüyler yoğunlaşmış bulunmaktadır. Çiçek durumu 1 (-2) brakteler lanseolat. Kaliks yaklaşık olarak 20-36 mm arasındadır [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman, enine kesit aldığımız da en dışta tek sıralı epiderma tabakası mevcut olmaktadır. Epiderma üstünde kalın tabaka olan kutikula mevcuttur. Bazende çok sıralı tüyler bulunmaktadır. Epiderma altında 10 sıralı korteks dokusu mevcuttur. Yaprak enine kesitine baktığımız zaman mezofil tabakasında birbirine benzeyen çok sayıda kloroplast organeli mevcuttur. Ayrıca mezofilde ufak boyut ve iri boyut da iletim elemanları bulunmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stoma hücreleri oval olup anemostiktir.

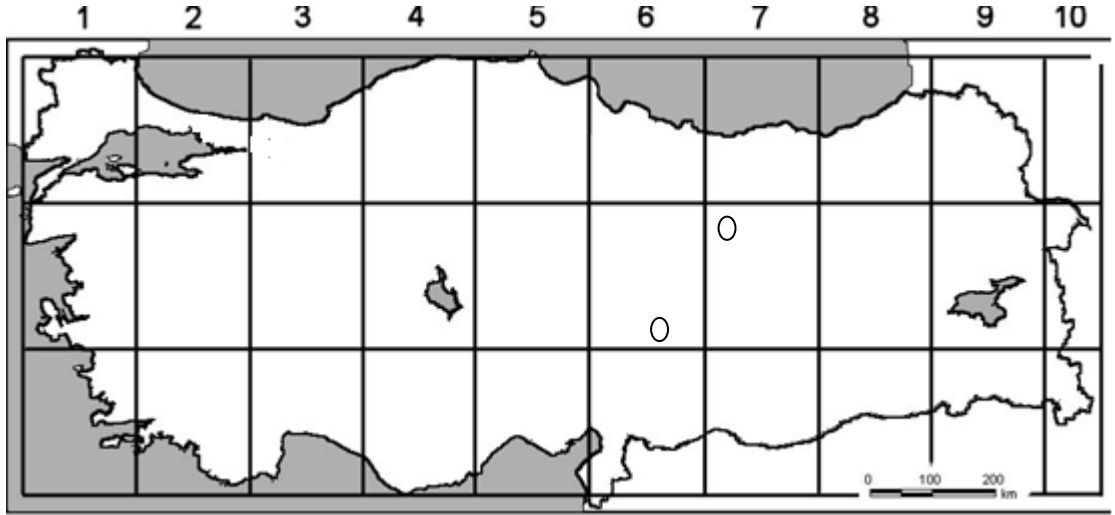


Şekil 1. 4 *S. fenziü*'nin Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Afyon: Dinar- Isparta karayolu 15 km yol kenarı, Niğde: Ulukışla, Çaykavak Geçidi, Ulukışla'ya 15 km kala, step 1600 m, Karaman: Ermenek- Mut arası, Ermenek'e 15 km kala kayalık yerler 1420-1470 m [15].

### 1.3.2 *Silene argaea* Fisch. & Mey. Ann. Sci. Nat. ser. 4, 1: 36 (1854).

Çok yıllık olup, gövdelerin uzunluğu 1,5-5 cm arasındadır. Gövde tabanından yukarı çıkıldıkça tüylenme artmaktadır. Çiçek durumu 1(-2) çiçekli, brakteler dar eliptiktir. Kaliks 20-27 mm uzunluğundadır [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman gövde enine kesiti incelendiği zaman en dış kısımda tek sıralı epiderma hücreleri mevcuttur. Epiderma kalın kutikula ile kaplıdır. Epiderma altında 11 hücre sıralı korteks mevcuttur. Yaprak anatomisini incelediğimiz zaman, alt ve üst yüzeyde epiderma mevcuttur. Epiderma kutikula ile kaplıdır. Üst epiderma alt epidermaya kıyasla daha büyük ve düzenlidir. Yaprak enine kesine baktığımız zaman mezofil tabakasında birbirine benzeyen çok sayıda kloroplast bulunmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval olup anemostiktir.

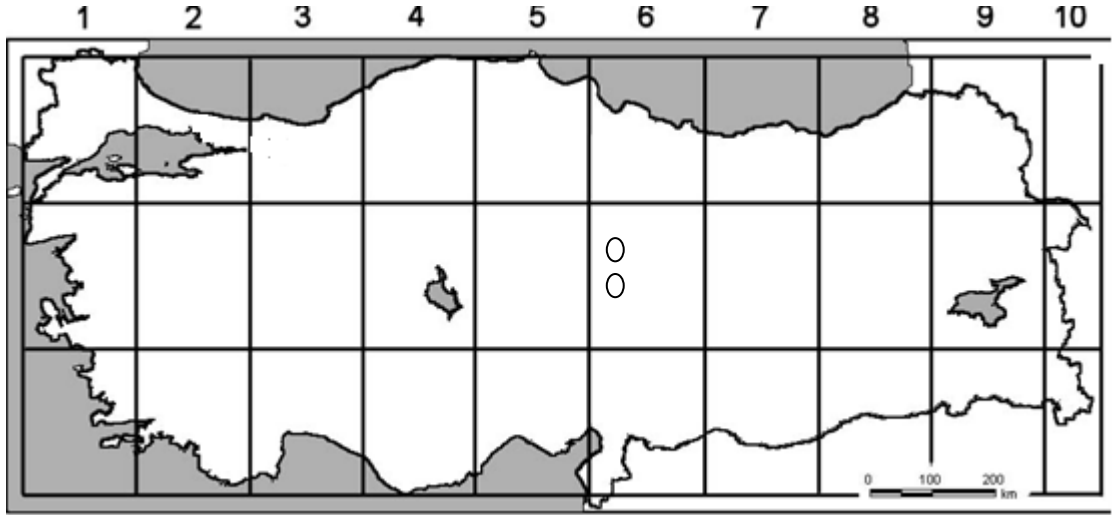


**Şekil 1.5** *S. argaea*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Kayseri: Erciyes Dağı, Çanak mevki, hareketli kayalıklar, 2700- 3000 m, Yozgat: Akdağmadeni, Büyük Nalbant Dağı, kayalıklar, 2200 m [15].

### **1.3.3 *Silene akmaniana* Ekim & Çelik, Notes R.B.G., 42: 85 (1984).**

Çok yıllık, caespitos. Yükseltici gövdeli ve gevşek çalımıdır. Gövde uzunluğu 33-49 cm arasındadır. Çiçek durumu 1 (-2) çiçeklidir. Brakteler oblanseolat. Kaliks 27-32 mm arasındadır [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman gövde enine kesitinde en dışta tek sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Epiderma üstünde kutikula mevcuttur. Bazende çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Epiderma altında 11 tabakalı parankimatik korteks tabakası bulunmaktadır. Yaprak anatomisine baktığımız zaman alt ve üst kısımda epidermis bulunmaktadır. Üst epiderma alt epidermaya kıyasla daha büyük olmaktadır. Ayrıca kutikula kalınlığı kıyaslama yapıldığı zaman üst epidermanın kutikula tabakası alt epidermaya göre daha kalındır. Yaprak enine kesiti incelendiği zaman mezofil tabakası birbirine benzeyen çok sayıda kloroplast bulunmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyin de bulunan stomalar oval olup anemostiktir.



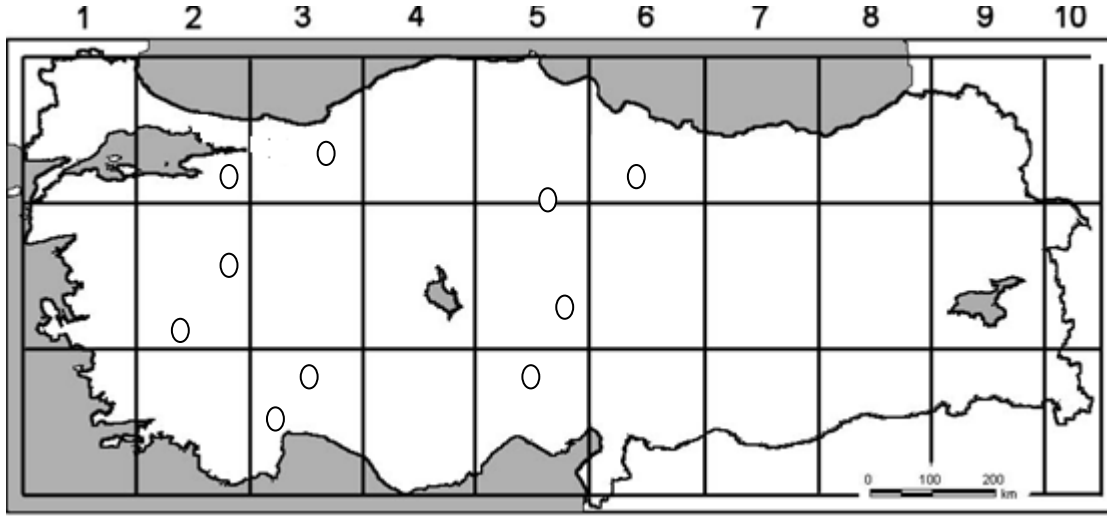
Şekil 1. 6 *S. akmaniana*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Kahramanmaraş: Binboğa Dağı, Doğankonak köyü doğusu, Kaplıkaya çevresi kayalık alanlar, 2000-2400 m, Kayseri: Pınarbaşı- Şarkışla, Kavak köyü üst kesimleri kayalıkları 1850-1900 m [15].

**1.3.4 *Silene rhynchocarpa* Boiss.,** Diagn. ser. 1, 1, 33 (1843).  
=Syn: *Silene lycia* Boiss., Diagn. ser. 1, 8, 90 (1849).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövde olup, gövdeler 9-23 cm uzunluğundadır. Tüylere gövde tabanında daha yoğun ve uzundur. Çiçek durumu tek çiçekli 2,3,(-5). Brakteler lanseolat. Kaliks 20-36 mm olup glandular tüylere daha yoğundur. Gövde anatomisine baktığımız zaman, gövde köşeli yapı göstermektedir. Otsu gövde kesimine baktığımız zaman, en dışta tek hücre sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Bu doku üstünde kalın kütikula bulunmaktadır. Ayrıca yer yer çok hücreli tüylere bulunmaktadır. Korteks tabasına baktığımız zaman 14 sıralı hücreler bulunmaktadır. Yaprak anatomisine baktığımız zaman alt ve üst yüzey epiderma dokusu ile çevrilidir. Bu doku üstünde kalın kütikula tabakası mevcuttur. Bazende epiderma hücrelerinde çok hücreli tüylere bulunmaktadır. Mezofil tabakasına baktığımız zaman

bol kloroplastlı parankima hücreleri bulunmaktadır. Yaprağın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval olup, anemostiktir.



Şekil 1.7 *S. rhynchocarpa*'nın Türkiye'deki yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Kütahya: Gediz, Murat Dağı, Çukurören yukarıları, taşlık çayır, 1200 m, Kayseri: Erciyes Dağı, 1300-1500 m, Yozgat: Çekerek, Ovacık köyü, Deveci Dağı göç yolu, 1900 m, Amasya: Ak Dağ, Uzunova yaylası, kayalık yerler, 1650-1700 m, Denizli: Çivril Akaya-Sığırkuyruğu arası, 1400 m [15].

### 1.3.5 *Silene araratica* Schischk. Izv. Tomsk. Univ. 77 (3): 292 (1927).

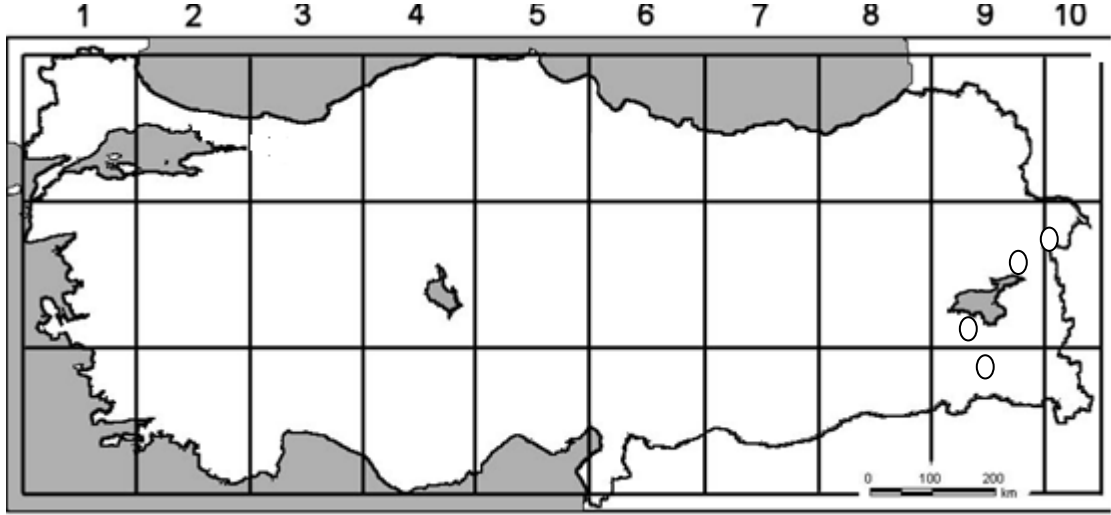
=Syn: *Silene davisii* Chowdh., Notes R.B.G., 22: 272 (1957).

=Syn: *Silene pulchella* Chowdh., op., cit. 273.

=Syn: *Silene araratica* Schischk. subsp. *davisii* (Chowdh.) Ghazanfar

Morfolojik özelliklerine baktığımız zaman, çok yıllık, caespitos,. Dik gövdeli olup gövde uzunluğu 3,5-14 cm uzunluğundadır. Çiçek durumu tek çiçek, 2 (-3) çiçekli dikazyum. Brakteler obavat. Kaliks 20- 34 mm. Gövde anatomisine baktığımız zaman, otsu gövdeden alınan kesitte en dışta tek sıralı epiderma dokusu yer almaktadır. Bu doku üstünde kutikula bulunmaktadır, yer yer çok sayıda tüy mevcuttur. Epiderma altında 8 sıralı korteks bulunmaktadır. Yaprak anatomisine

baktığımız zaman, alt ve üst kısımda tek sıralı epiderma mevcuttur. Bu doku üstünde kutikula tabakası bulunur. Bu tabaka üst kısımda daha kalındır. Mezofil tabasına baktığımız zaman, çok sayıda kloroplast taşıyan parankima hücreleri bulunmaktadır. Yaprığın alt ve üst yüzeyinde bulunan stomalar oval şekilli olup, anemostiktir.



Şekil 1.8 *S. araratica*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Van: Van kalesi, kayalık ve nemli yerler, 1750 m, Hakkari: Cilo Dağı, 2600 m[15].

### 1.3.6 *Silene brevicaulis* Boiss., Diagn., ser. 1, 1, 34 (1843).

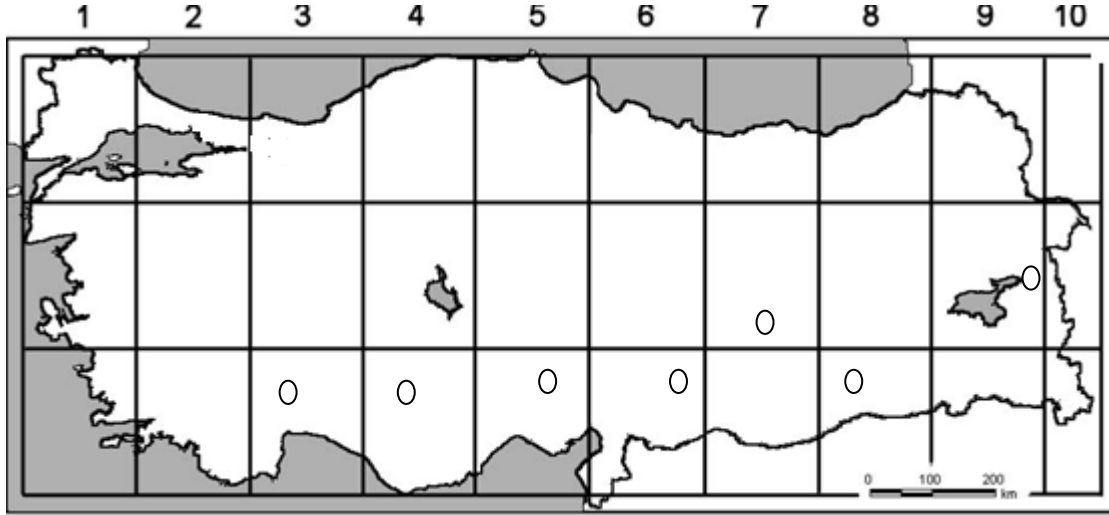
=Syn: *Silene brevicaulis* Boiss. var. *latiloba* Boiss. Fl. Or. 1: 623 (1867).

=Syn: *Silene antitaurica* Chowdh., Notes R.B.G., 22: 273 (1957).

Çok yıllık, caespitos. Gövde seyrek bir şekilde dağılmıştır. Uzunluğu 5-17 cm dir. Çiçek durumu 1-2 çiçekli nadiren 3 çiçeklidir. Brakteler oblanseolat. Kaliks 20-30 mm dir [14]. Otsu gövde den alınan kesite baktığımız zaman en dışta epiderma dokusu, bu doku üstünde kutikula tabakası bulunmaktadır. Korteks 6 sıralı hücrelerden oluşur. Yaprak anatomisine baktığımız zaman, enine kesitte alt ve üst kısım da epiderma dokusu ve bu doku üstünde kutikula bulunmaktadır. Yaprığın enine kesitinde ki mezofil tabakasına baktığımız zaman bir sıralı epiderma hücreler bulunmaktadır. Dış yüzeyde kutikula tabakası mevcuttur. Mezofil tabakasına



baktığımız zaman irili ufaklı çok sayıda iletim demeti bulunur. Ayrıca çok sayıda kloroplast bulunduran parankima hücreleri bulunmaktadır. Yaprağın her iki tarafında bulunan stomalar oval olup, anemostiktir.



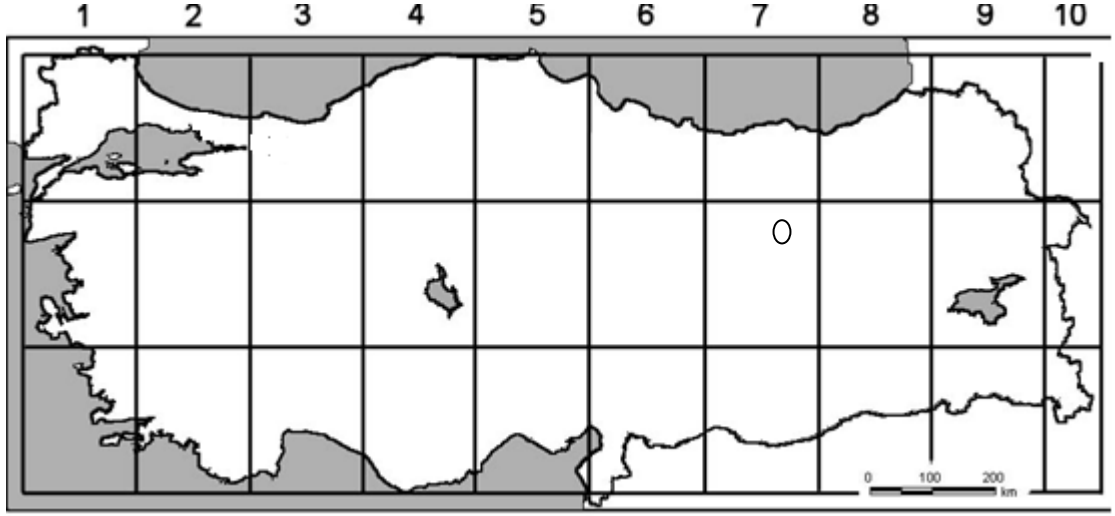
Şekil 1.9 *S. brevicaulis*'in Türkiye'deki Yayılışı

Yayıliş lokalitelerine baktığımız zaman, Konya: Karadağ, Adana: Polatlı, Bolkar Dağları, Maden köyü üzeri, 2300-2500m, Mardin: Kalamatre, Van: Özalp, Sarayköy civarı Turgut tepe 2096 m [15].

### 1.3.7 *Silene azirensis* Coode & Cullen Notes R.B.G. 28: 4 (1967).

Çok yıllık, gövdeler aynı kök üzerinde dağılmış haldedir. Gövde uzunluğu yaklaşık 4-8 cm uzunluğunda olup, gövde tabanından tüyler yoğun haldedir. Çiçek durumu tek çiçekli, 2, 3, (-5), brakteler lamseolat. Kaliks 19-30 mm uzunluğundadır [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman enine kesiti incelediğimiz zaman tek sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Bu tabakanın üstünde kalın kutikula bulunur. Bu tabakanın altında 11 sıralı korteks bulunur. Yaprak anatomisine baktığımız zaman, alt ve üst tabakasında epiderma bulunur. Bu hücreler tek sıralıdır. Epiderma üstü kutikula ile kaplıdır. Üst kutikula alt kutikula ya oranla daha kalındır. Yaprak mezofil tabakasına baktığımız zaman, birbirine benzeyen bol kloroplastlı

parankimatik hücreler bulunur. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stoma hücreleri oval olup, anemostiktir.



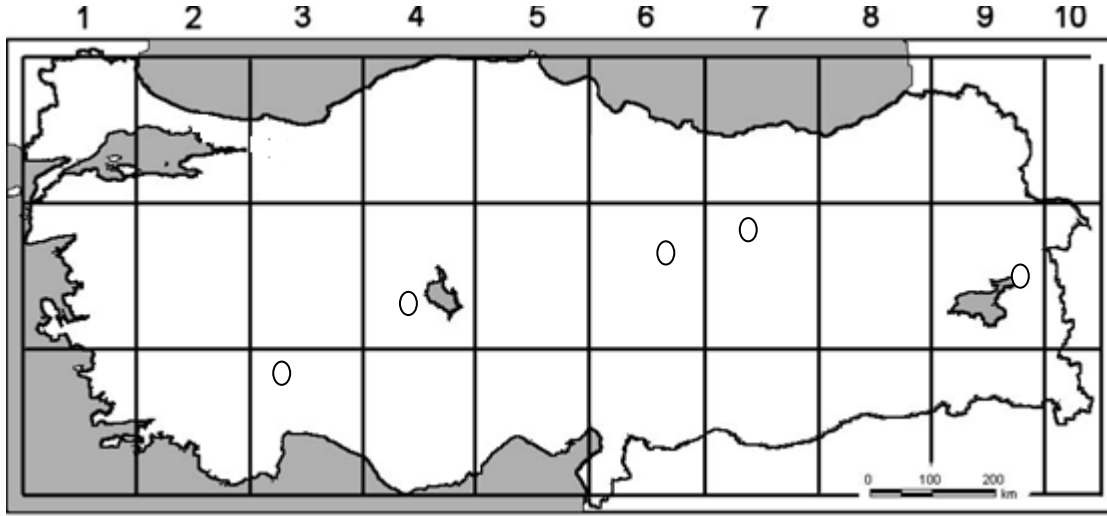
Şekil 1.10 *S. azirensis*'in Türkiyedeki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Erzincan, keşiş dağı, Esentepe mevki, 2700-3000 m [15].

**1.3.8 *Silene ruscifolia*(Hub.-Mor. & Reese)** Hub.-Mor. Notes R.B.G., 28: 4 (1967).  
=Syn: *Silene commelinifolia* Boiss. var. *ruscifolia* Hub.-Mor. & Reese, Feddes Rep. 52: 44 (1943).

Çok yıllık, caespitos, kök yapısına baktığımız zaman odunsu köklüdür. Gövde dik olup 8-17 cm, nodumlar arası mesafe fazladır. Çiçek durumu 3, 5 veya daha fazla çiçekli dikazyum. Brakteler ovat- lanseolat. Kaliks 18-26 mm [14]. Gövde enine kesitine baktığımız zaman, en dışta tek sıralı epiderma hücreleri vardır. Bu hücrelerin üstünde kalın bir kutikula tabakası bulunmaktadır. Epiderma hücreleri arası yoğun, çok hücreli tüyler mevcuttur. Epiderma dokusunun hemen altında 14 hücre sırasından oluşan korteks bulunmaktadır. Yaprak anatomisini incelediğimiz zaman, enine kesit incelendiğimiz zaman alt ve üstte kutikula tabakası mevcuttur. Üst yüzeydeki kutikula alt yüzeye kıyasla daha kalındır. Üst epidermis alt epidermise göre daha düzgündür. Yaprak mezofil tabakasına baktığımız zaman

birbirine benzeyen bol kloroplastlı parankimatik hücelere rastlamaktayız. Yaprağın her iki yüzünde bulunan stoma hüceleri oval şekillidir.

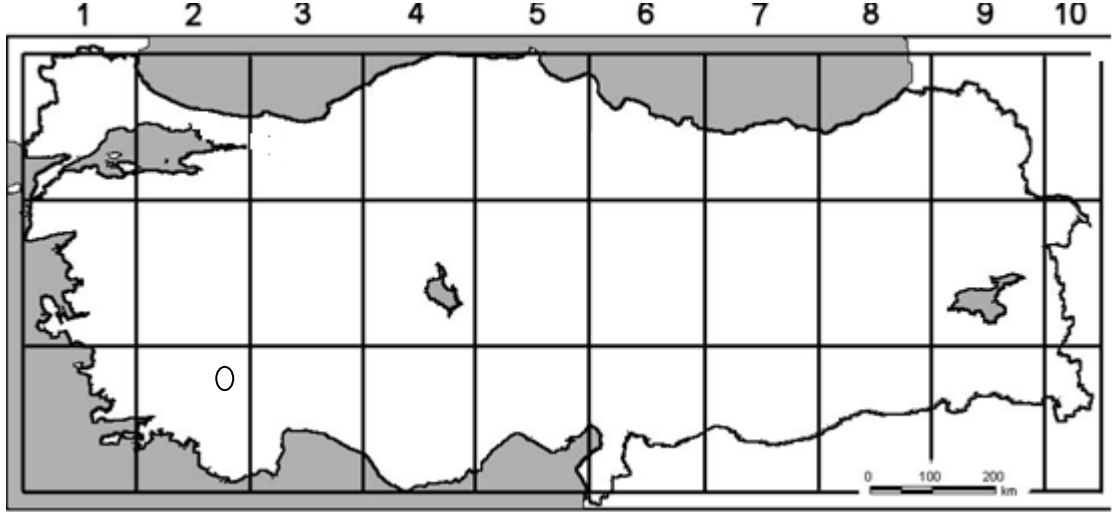


Şekil 1.11 *S. ruscifolia*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Ankara: Beynam ormanı, *Pinus nigra* ormanı açıkları, 1300-1400 m, Sivas: Hafik, Günyamaç mevkii, kayalıkları, cipsli topraklar, 1470 m, Erzincan: Kolçekmez Dağı geçidi, step, 2400 m, Van: Çatak step, 2000 m [15].

### 1.3.9 *Silene denizliense* Aytaç, Thaiszia-g, J. Bot. (Kosice) 8: 7-11 (1998).

Çok yıllık, caespitos, tabanında odunsu narin bir gövdeli olup gövde silindirik, dik, tabanında sık yapraklıdır. Gövde uzunluğu 14-30 cm dir. Çiçek durumu 1 (-2) çiçekli. Braktaler lanseolat. Kaliks 12-15 mm [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman, otsu gövdeden aldığımız kesitte en dışta epiderma dokusu bulunmaktadır. Bu doku üstünde kalın kutikula tabakası bulunmaktadır. Epiderma dokusu altında 13 sıralı korteks bulunmaktadır. Yaprak anatomisini incelediğimiz zaman, yaprak enine kesitinde, alt ve üst kısımda epiderma hüceleri mevcuttur. Bu hücrelerin üstünde kutikula tabakası bulunmaktadır. Üst kutikula tabakası alt kutikula tabakasına kıyasla daha kalındır. Yaprak mezofil yapısına baktığımız zaman, bol kloroplastlı parankimatik hücreler bulunmaktadır. Yaprağın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval olup, anemostiktir.

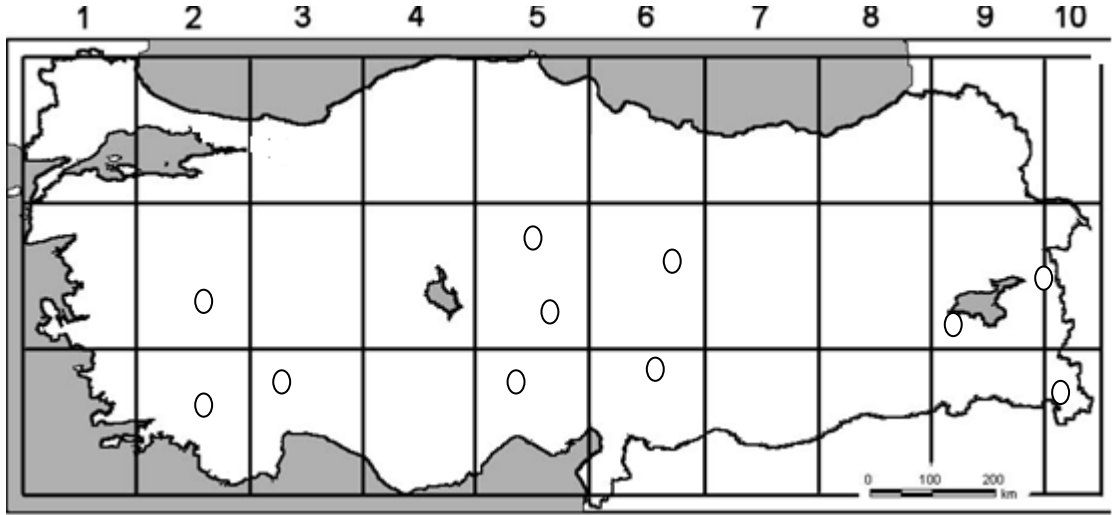


Şekil 1.12 *S. denizliense*'nin Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzdaki yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Denizli: Çamlık mevki taş ocağı üst kesimleri, 800-1000 m [15].

### 1.3.10 *Silene lucida* Chowdh. Notes R.B.G., 22: 271 (1957).

Çok yıllık çalımı, küme oluşturan. Dik gövdeli olup, gövde uzunluğu 9-21 cm dir. Nodyumlar arası mesafe tabandan yukarı doğru artmaktadır. Çiçek durumu 1 nadiren 2 çiçekli dikazyum. Brakteler linear- lanseolatdır. Kaliks 11-18 mm dir [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman, otsu gövde enine kesitlerde en dışta tek sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Bu doku üstünde kalın bir kutikula tabakası bulunmaktadır. Epiderma hücreleri arasında yer yer sıralı tüyler mevcuttur. Bu dokunun hemen altında 8 sıra hücrelerden oluşan korteks bulunur. Yaprak anatomisine baktığımız zaman, enine kesittin hem alt hem üst kısımda tek sıralı epiderma hücreleri vardır. Epiderma yüzeyi kutikula tabakası ile kaplıdır. Üst kutikula alt kutikulaya nispeten daha kalındır. Üst epiderma alt epidermaya kıyasla daha düzgündür. Yaprak mezofil tabakasında bol kloroplastlı ve birbirine benzeyen parankima hücreleri bulunmaktadır. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stoma hücreleri oval şekilli olup anemostiktir.



Şekil 1.13 *S. lucida*'nın Türkiye'deki Yayılışı

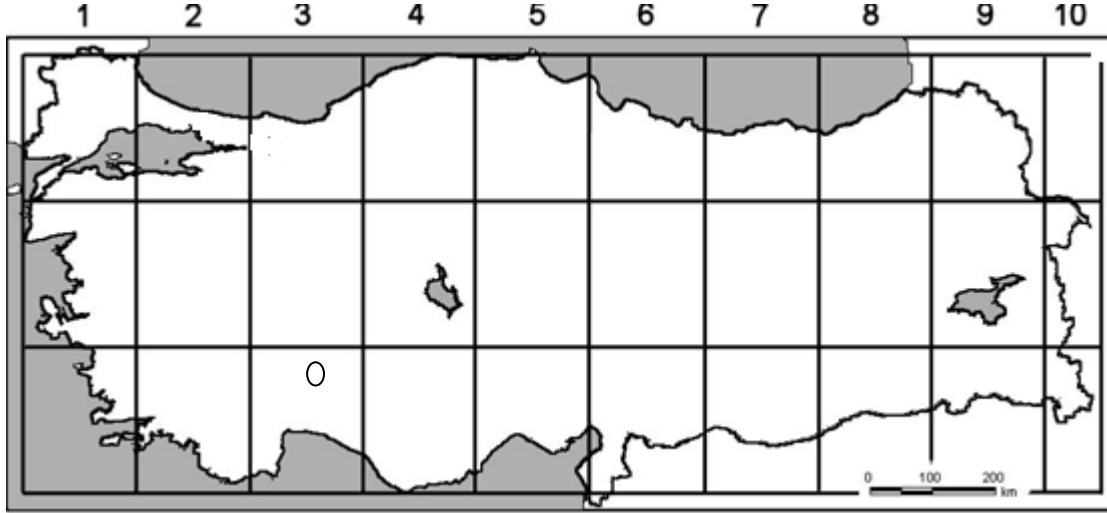
Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Adana: Pozantı, Bolkar dağları, Maden köyü üzeri, Isparta: Sütçüler, Sarıçiçek Yaylası, karaçam ormanı açıkları, 1400-1600 m, Kayseri: Erciyes Dağı etekleri, taşlık kayalık alanlar, 1750-1900 m, Kütahya: Gümüş Dağı, Abide Köyü civarı, alpinik çayır ve step, yamaçlarda, 1650-1800 m, Van: Erek Dağı, alpinik step, 2200 m[15].

### 1.3.11 *Silene glandulosa* (Ekim) Özçelik & Kılıç

=Syn: *Silene lucida* Chowdh. subsp. *glandulosa* Ekim Notes R.B.G., 42: 85 (1984).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövdeli; gövdeler 4-12 cm uzunluğundadır. Nodyumlar arası uzaklık yukarı doğru artar. Çiçek durumu tek çiçek, brakteler linear-lanseolat. Kaliks 16-32 mm dir [14]. Otsu gövdeden alınan enine kesitlerde en dışta tek hücre sıralı epiderma dokusubulunmaktadır. Epiderma üzeri kalın bir kutikula tabakası ile kaplıdır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Epidermanın hemen altında 8-9 hücre sırasından oluşan korteks dokusu bulunur. Yapraktan alınan enine kesitlerde yaprağın alt ve üst yüzeyinin tek hücre sıralı epiderma dokusu ile kaplı olduğu görülmektedir. Epiderma yüzeyi kutikula tabakası ile kaplıdır. Üst yüzeydeki kutikula alt yüzeye oranla daha kalındır. Yaprak enine kesitinde mezofil birbirine benzeyen ve bol kloroplast içeren

parenkima hücreleri ile kaplıdır. Yaprağın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval şekilli olup(amarillis), anemostiktir.



Şekil 1.14 *S. glandulosa*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Isparta: Davraz Dağı, kayak pisti üstleri, hareketli kayalıklar, 2000-2200 (-2300) m [15].

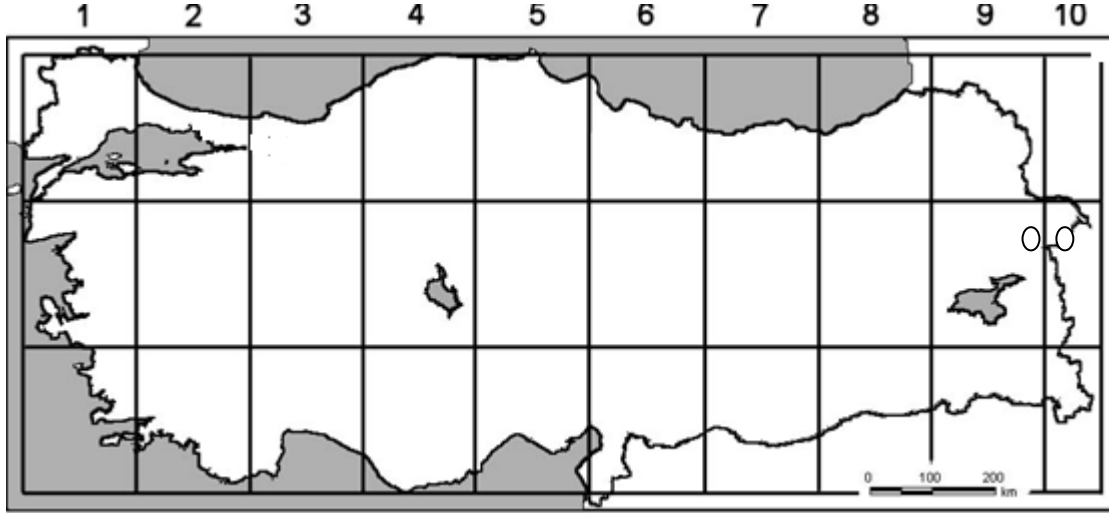
### 1.3.12 *Silene caucasica* (Bunge) Boiss. Fl. Or. 1: 622 (1867).

=Syn: *Silene vallesia* var. *caucasica* Bunge, Ind. Sem. Hort. Dorp. 7 (1837).

=Syn: *Silene tatarica* Schischk., Ac. Inst. Bot. Acad. Sci. USSR., ser. 1. 179, f. 3 (1936).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövdeli, gövdeler 8-20 cm uzunluğundadır. Çiçek durumu 2 çiçekli veya 3-5 çiçekli dikazyum. Brakteler lanseolat. Kaliks 14-19 mm uzunluğundadır [14]. Otsu gövdeden alınan enine kesitlerde en dışta tek hücre sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Epiderma üzeri kalın bir kutikula tabakası ile kaplıdır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Bu tabakanın altında 11-12 hücre sıralı korteks yer almaktadır. Yaprağın alt ve üst yüzeyi tek hücre sıralı epiderma dokusu ile çevrilidir. Üst yüzeydeki epiderma alt yüzeydekine oranla daha büyük ve düzenlidir. Alt ve üst epiderma yüzeyi kutikula

tabakası ile kaplıdır. Üst yüzeyde kutikula kalınlığı daha fazladır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır.



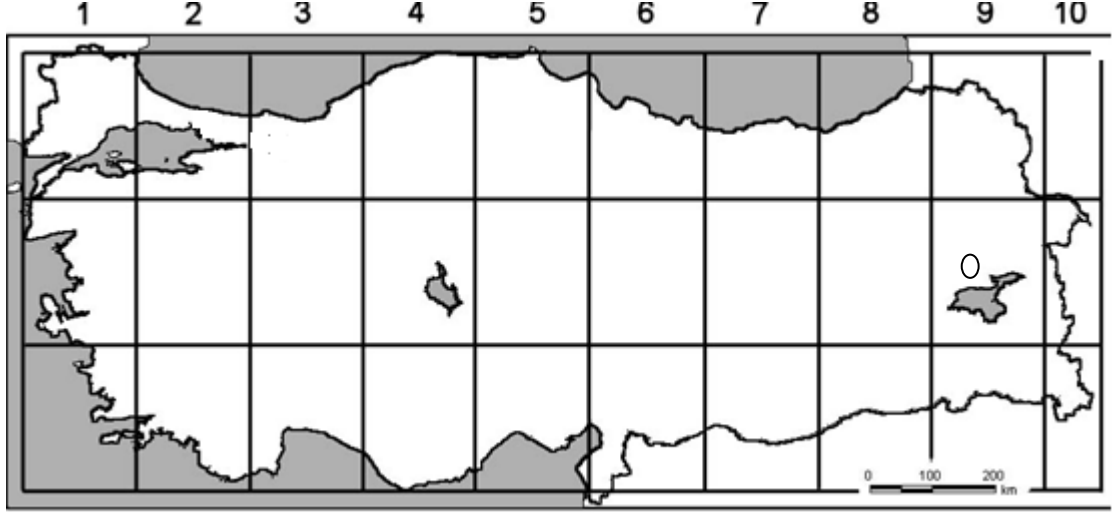
Şekil 1.15 *S. caucasica*'nın Türkiye'deki yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Van: Gevas-Tatvan arası, Pelli Dağı, 2600-2775 m, Ağrı: Ağrı Dağı, Serdarbulak yaylası, 2370 m [15].

### 1.3.13 *Silene erimicana* Stapf, Math.-Nat. 51: 284 (1886).

Çok yıllık, caespitos. Dik gövdeli olup gövdeler 14-26 cm dir. Çiçek durumu 3 veya daha fazla çiçekli bileşik dikazyum. Brakteler obovat. Kaliks 17-24 mm dir [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman, Otsu gövdeden alınan enine kesitlerde en dışta tek hücre sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Epiderma üzeri kalın bir kutikula tabakası ile kaplıdır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Bu tabakanın altında 8-10 hücre sıralı korteks yer almaktadır. Yaprığın alt ve üst yüzeyi tek hücre sıralı epiderma dokusu ile çevrilidir. Üst yüzeydeki epiderma alt yüzeydekine oranla daha büyük ve düzenlidir. Alt ve üst epiderma yüzeyi kutikula tabakası ile kaplıdır. Üst yüzeyde kutikula kalınlığı daha fazladır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Yaprak enine kesitinde mezofil birbirine benzeyen ve bol miktarda kloroplast taşıyan

parenkima hücreleri ile kaplıdır. Yaprağın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval şekilli olup, anemostiktir



Şekil 1.16 *S. erimicana*'nın Türkiye'deki yayılışı

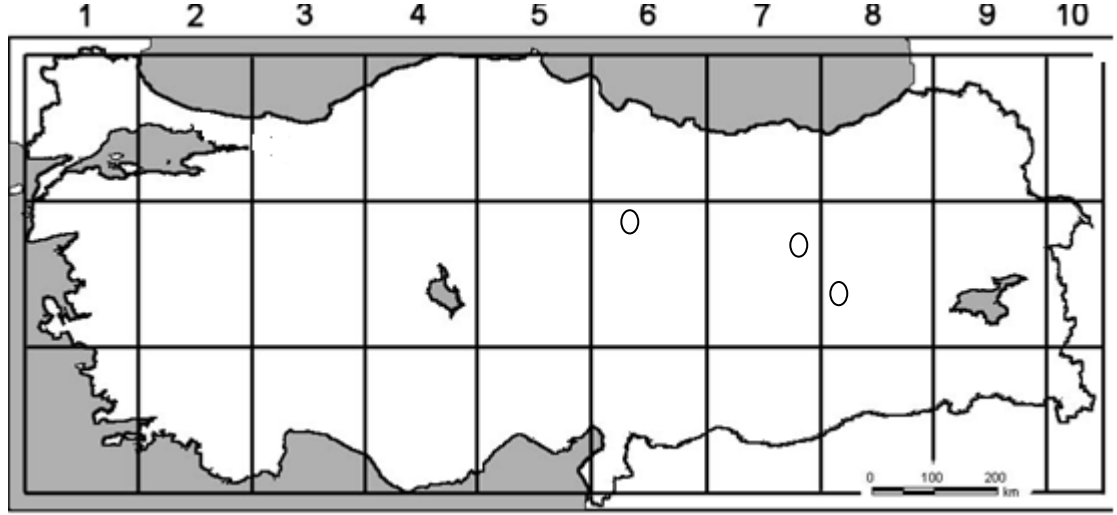
Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, VAN: Gevas, Pelli Dağı, kayalık yerler, 2600-2700 m [15].

#### 1.3.14 *Silene oligotricha* Hub.-Mor., Notes R.B.G., 28: 5 (1967).

Çok yıllık, caespitos. Dik, narin gövdeli olup uzunluğu yaklaşık 20 cm olmaktadır. Gövde taban kısmı tüsüzdür. Çiçek durumu 1 çiçekli veya 3, 5 çiçekli bileşik dikazyum. BraktelerLanseolat. Kaliks 11-18 mm dir [14]. Gövde anatomisine baktığımız zaman, otsu gövdeden alınan enine kesitlerde en dışta tek hücre sıralı epiderma dokusu bulunmaktadır. Epiderma üzeri kalın bir kutikula tabakası ile kaplıdır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Bu tabakanın altında 8-10 hücre sıralı korteks yer almaktadır. Yaprak anatomisini incelediğimiz zaman, Yaprığın alt ve üst yüzeyi tek hücre sıralı epiderma dokusu ile çevrilidir. Üst yüzeydeki epiderma alt yüzeydekine oranla daha büyük ve düzenlidir. Alt ve üst epiderma yüzeyi kutikula tabakası ile kaplıdır. Üst yüzeyde kutikula kalınlığı daha fazladır. Epiderma hücreleri arasında yer yer çok hücreli tüyler bulunmaktadır. Yaprak enine kesitinde mezofil birbirine benzeyen ve bol kloroplast



taşıyanparenkima hücreleri ile kaplıdır. Yaprığın her iki yüzeyinde bulunan stomalar oval olup, anemostiktir.



Şekil 1.17 *S. oligotricha*'nın Türkiye'deki Yayılışı

Yurdumuzda yayılış lokalitelerine baktığımız zaman, Tunceli: Pülümür-Mutu arası, Alpinik step, 1780 m [15].

#### 1.4 *Silene* Üzerine Yapılan Moleküler Sistemik, Morfolojik ve Anatomik Çalışmalar

Hem ekonomik hem de tıbbi olarak öneme sahip olan *Silene* üzerine genetik, moleküler sistemik, morfolojik, polen çalışmaları, kromozom gibi pek çok çalışmalar yapılmıştır. Kuzey Kıbrıs da yetişen *Silene gigantea* L. *Silene behen* türleri üzerine Kemal Yıldız (2005) morfolojik ve palinolojik çalışmalar yapmıştır[16]. Ömer Ertürk, Hatice Katı, Nurettin Yaylı ve Zihni Demirbağ (2005) tarafından *Silene multifida* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır[17]. Azornoosh Jafari ve ark. (2008) İranın kuzey doğusunda yetişen *Silene* L. Türlerinin üzerine biyosistemik çalışmalar yapmıştır [18]. Masoud Sheidai ve ark. (2010) *Auriculatae* seksiyonuna ait *Silene* L. türlerinin RAPD markırlara dayalı çalışmalar yapmıştır [19]. Hasan Özçelik ve Sema Kılıç (2009) *Auriculatae* seksiyonuna ait *Silene* L. türlerinin morfolojik ve anatomik çalışmalar

yapmıştır[20]. Yavuz Bağcı (2006) Türkiye de Güneydoğu Anadolu bölgesinde yeni bir *Silene* L. türü bulmuştur [20]. Ergin Hamzaoğlu ve ark. (2010) Doğu Anadolu dan yeni bir *Silene* L. türü bulmuştur [22].

## 1.5 Moleküler Filogeni

1960'lı yıllara kadar, sistematik çalışmalar morfolojik, anatomik verilere dayanarak elde edilmiştir. Bu zamandan sonra makromoleküllerin sistematik çalışmalarda kullanılması önemli bir rol almıştır. Moleküler veriler yardımı ile filogenetik analiz kolay ve güvenilir şekilde yapılmaktadır. Çünkü moleküler çalışmalarda DNA molekülü kullanılmakta ve bu bize hızlı ve güvenilir sonuçlar vermektedir. Sistematikte yapılan çalışmalarda proteinler büyük oranda ilgilendirilmiştir. İzoenzim ve allozimler elektroforezleri moleküler sistematikte sık kullanılan yöntemlerden olmuştur [23]. Bununla birlikte izoenzimler üzerinde olan çalışmalar [24,25] floral davranışlarla genetik ilişkiler arasındaki cins ve cins altı sınırları suni olduğunu gösteren bir ilişki eksikliği olduğunu göstermektedir [26].

Bitkilerde filogenetik analiz için kullanılan moleküler markırlar nükleer DNA 'nın ITS bölgeleri[27-30] kloroplast DNA'sı [31-34] mitokondriyal DNA [35-37], RPB2 gibi tek veya az kopyalı nükleer genlerdir [38,39].

### 1.5.1 Moleküler Markırlar

Polimorfizm, DNA'daki yer değiştirmeleri, parça eksilmeleri, parça yerleştirmeleri ile meydana gelir. Ayrıca bu genleri onların düzenlenmelerini, morfolojiyi, gelişmeyi, biyokimyasal davranışını etkileyeceğinden değişim sürecinin fenotipik varyasyon kaynağıdır[40]. Bu varyasyonları tanımak amacı ile izoenzimler, biyokimyasal işaretleyiciler, restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), basit dizi tekrarları (SSR), çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) ve doğrudan DNA dizileme gibi moleküler işaretleyiciler başarı ile kullanılmıştır. Moleküler markırların kullanım

alanlarına baktığımız zaman bitki tür ve çeşitlerinin DNA parmak izlerinin belirlenmesi ile yapılan sistematik çalışmalar, genetik haritalama çalışmaları, GDO( genetiği değiştirilmiş organizmalar)'nun tanımlanmasında, allel çeşitliliğinin araştırılması ve mutasyonların belirlenmesi gibi pek çok çalışmalarda kullanılmaktadır. Moleküler markrlar genetik çeşitliliğin belirlenmesinde farklı bitkiler arasında filogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır [41].

### **1.5.2 Moleküler Markırların Özellikleri**

- 1-) Polimorfik olmaları
- 2-) Kolay uygulanabilir olmaları
- 3-) Tekrar edilebilmeleri
- 4-) Genom boyunca dağılım gösterebilmeleri
- 5-) Çevre ve diğer lokuslardan etkilenmemeleri
- 6-) Kodominant olmaları [42].

### **1.5.3 DNA'ya Dayalı Markırlar**

DNA dizisindeki polimorfizmin belirlenmesi için son yıllarda RFLP ((Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat) ve RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA ) gibi moleküler markırlar tekniği geliştirilmiştir [43].

### **1.5.4 Protein Markırlar**

Proteinlerin elektroforezi makro moleküllerden sistematik veri oluşturmak için çok etkili bir tekniktir. Bu teknik sistematik çalışmalar için yaygın hale gelmiştir [44].

Genel de elektroforetik metotlar protein bilgilerinin iki önemli formu, izoenzimler ve allozimler üzerine yoğunlaşır. İzozimler aynı reaksiyonu katalizleyen, fakat birbirinden aminoasit dizisi, substrat afinitesi veya düzenlemeözellikleri

bakımından farklılık gösteren bir enzimin farklı formlarıdır. Farklı genler tarafından kodlanan farklı moleküler formlar içerirler [45-47].

Allozimler aynı gen lokusunun farklı alleleridir. Biz allozimler için izozimlerin bir alt kümesidir diyebiliriz [48]. Bu proteinler şekil, büyüklük veya bu gibi faktörlerin bir kombinasyonundan dolayı jelde farklı şekilde göç ederler. Böylece her iki form da bitkilerde sistematik ve filogenetik çalışmalar için kullanılabilir [49-53].

Heterozigotlar homozigotlara göre farklı fenotipe sahiplerdir ve dolayısıyla bitkileri bir gen lokusunda homozigot ve heterozigot olarak ayırmak mümkündür. Gen sıklıkları homozigot ve heterozigotları belirleyerek hesaplanabilir ve bu hesaplamalar filogenetik amaçlar için popülasyonların kıyaslamalarında kullanılabilir [44-54].

## **1.6 Moleküler Filogenide Kullanılan Deneysel Yöntemler**

### **1.6.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)**

Kodominant markırlar olarak kalıtıldıkları için RFLP kullanılarak linkaj oluşturmak mümkündür. RFLP günümüzde kara bitkilerin evrimsel gelişiminde hem tür içinde hemde moleküler sistematik çalışmalarda oldukça önemlidir. Çok kısa bir zaman kadar kloroplast DNA'sı (cpDNA) ile yapılan RFLP çalışmaları taksonomi ve filogeni çalışmalarında kullanılsalarda, tür içi sınıflandırmalarda uygun olmayan genetik markırlar olarak seçilmektedirler[57-62]. RFLP, kıyaslama amacı ile farklı organizmalara ait aynı veya homolog DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleri ile kesilmesi esasına dayanır. Restriksiyon enzimleri çift zincirli DNA'yı kesen endonükleazlardır. DNA parçaları agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezinde büyüklük esasına dayanır. Jeldeki örnekler uygun bir boyama tekniği ile görünür hale getirilir[55,56].

DNA nitro selüloz veya naylon membranlar üzerine transfer edilir. DNA parçaları, jelin alkali ortamda ısıtılması ile denatüre edilir ve nitro selüloz kağıt üzerine transfer edilerek radyoaktif olarak işaretlenmiş DNA probunun bulunduğu solusyona daldırılır. Parçalar probun hibridizasyonu otoradyografi ile açığa çıkartılır[55,56].

RFLP'nin avantajlarına baktığımız zaman güvenilirdir, orta düzeyde polimorfizm göstermektedirler. RFLP markırları kodominant özellikte oldukları için heterozigotların belirlenmesinde ve karakterizasyonunda kullanılmaktadırlar[63].

RFLP'nin dezavantajlarına baktığımız zaman analizleri pahalı olup fazla zaman almaktadır ve çok fazla iş gücü gerektirmektedir. Yüksek kalitede DNA 'ya ihtiyaç duyulmaktadır. Çoğu durumlarda radyoaktif etiketleme yöntemi kullanılmaktadır[64].

### **1.6.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)**

En son geliştirilmiş DNA parmak izi tekniklerinden birisidir ve Vos tarafından geliştirilmiş ve tarif edilmiştir. Bir çift özgün restriksiyon enzimi uygun adaptörler yardımı ile birlikte ve seçici polimeraz zincir reaksiyonu ile birleştirilerek nükleotid dizisi hakkında bir ön bilgi olmaksızın genetik çeşitliliği belirlemeyi mümkün kılar. Bu teknik üç basamakta gerçekleşir. İlk basamak DNA'nın enzimlerle kesilmesi ve oligonükleotid adaptörlerle birleştirilmesi. İkinci basamak restriksiyon parçanın seçici çoğalımı. Son basamak ise çoğalan parçaların jel analizidir. AFLP analizi ile homozigot ve heterozigot bireylerin ayrımı belirlenir. Ayrıca bu teknik ile genetik haritalama, parmak izi çalışmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır [64,65].

AFLP tekniğinin avantajına baktığımız zaman markırları güvenilir nitelikte olup yüksek seviyede polimorfizm gösterirler [65]. Genomik DNA'nın bilinmesine gerek yoktur. Çok sayıda aynı anda etkili bir şekilde tarama yapması nedeniyle parmak izi analizi için çok uygundur.

AFLP tekniğinin dezavantajlarına baktığımız zaman Çoğunlukla dominant markır verirler. Ancak son zamanlarda kodominant markırda verdiği bildirilmiştir. Genetik haritalamada sentromer ve telomerlerde kümelenme oluşturabilir.

### **1.6.3 SSCP (Single Strand Conformational Polymorphism)**

SSCP analizleri genellikle kısa uzunluktaki DNA'lardaki varyasyonlarını belirlemek için düşünülmüştür. Bu analizde PZR parçalarının boyu 175-250 bp arasında olmaktadır. SSCP analizinde, PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yapıldıktan sonra jelden geri kazanma ihtimali fazladır [66]. Ayrıca SSCP analizi ile bir genin tümünün analizi yerine sadece mutasyon içeren parçaların inceleme sürecini kısalttığı gibi maliyetide azaltmaktadır.

### **1.6.4 SSR (Simple sequence repeats) Mikrosatellitler**

Mikrosatellitler, ökaryot genomlarda bulunur ardışık tekrarlı 3-5 bp içeren gruplardır. Bu tekrarlı gruplar tüm ökaryotlarda bulunmaktadır. Ayrıca yüksek oranda korunmuş guruplardı r[67]. Mikrosatelit genom boyunca dağınık bir şekilde bulunmaktadır. Minisatellitlere kıyasla DNA'nın çok az bir dokusundan kolay bir şekilde izolasyonu gerçekleştirilebilmektedir.

SSR primerlerinin üretiminde genel olarak 3 farklı yaklaşım tercih edilmektedir. İlki genomik DNA kütüphanelerinin SSR oligonükleotidlerinin hibridizasyonu yolu ile gözlemlenmesi, ikincisi DNA veri bankalarında SSR'ların araştırılması, sonuncusu akraba bitki türlerinde geliştirilmiş olan SSR'da spesifik primerlerin kullanımınıdır [68,69]. SSR tekniğinin avantajlarına baktığımız zaman oldukça polimorfiktir, bu sebepten dolayı bitkiler hakkında yüksek oranda bilgi vermektedir. SSR dezavantajına baktığımız zaman bu teknik ile nükleotid dizilerinin belirlenmesi ve yan yana tekrarlanan yapıların başlangıç ve bitiş bölgelerinden özel başlatıcı DNA'lar geliştirilmesi gerekir [70].

### **1.6.5 RAPD (Rasgele ogaltılmıs Polimorfik DNA)**

RAPD tekniği ilk olarak Williams ve arkadaşları tarafından farklı bireylere ait insan DNA örneklerini ayırt etmek amacıyla kullanılmıştır [71]. Rastgele primerler kullanılarak nükleotid dizisi hakkında herhangi bir bilgi olmaksızın uygulanabilmektedir [72]. RAPD primerleri genomda kendisine komplementer olan bölgelerle eşleşirler. Farklı genomlar karşılaştırıldığında, aralarında nükleotid farklılıkları varsa, primer bağlanma yeri değişebilir [73]. RAPD markırları bitki üreticileri için umut olmuştur. Çünkü az miktarda genomik DNA gerektirir, yöntem hızlıdır ve basittir. Ancak laboratuvar çalışmalarında özen gerektirir [74]. RAPD yöntemi başlıca uygulama olarak genetik uzaklık derecesini belirleme ve akraba olan türlerin genom mukayesesinde kullanılmıştır [75]. RAPD analizinin avantajlarına baktığımız zaman;

- 1-) Kullanım hızlı ve kolaydır
- 2-) tek bir primer ile farklı organizmalar karşılaştırılabilir.
- 3-) polimorfizm oldukça yüksektir.
- 4-) DNA'ya az miktarda ihtiyaç duyulur
- 5-) RAPD-RZR bitki ıslah çalışmalarında faydalı olduğu bulunmuştur.

RAPD analizinin dezavantajına baktığımız zaman belirteçlerin dominant olması nedeni ile heterozigotes his zordur [76-78].

### **1.6.6 DNA Dizileme**

DNA dizi analizleri veya sekanslama DNA birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Analiz bir nükleik asit dizisinin değerine hibridizasyonuna dayanır. Bu hibridizasyon sırasında radyoaktif ya da radyoaktif olmayan maddelerle işaretleme yapılır. Sıklıkla gen mutasyonları (delesyon, insersiyon vb.) tespiti ya da rekombinant DNA oluşum yapılarının tayininde kullanılır. Ayrıca gen regülasyonunda yer alan genetik kontrol

bölgeleri, konsensus dizileri, epistatik genler ve etkileri belirlenebilmektedir. Preimplantasyon tanısı, kalıtsal hastalık tayininde oldukça kullanılır.

Nükleotit dizilein belirlenmesinde iki temel teknik kullanılmaktadır.

1. Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntem [78].
2. Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemi [79].

### **1.7 Moleküler Filogenide Kullanılan DNA Çeşitleri**

Bitki moleküler sistematigi son yirmi yılda hızlı bir şekilde gelişmiştir. Sistemik filogeni çalışmalarda kloroplast DNA' sı, mitokondriyal DNA ve nükleer ribozomal DNA üzerine yoğunlaşmıştır.

#### **1.7.1 Mitokondri Genomu**

Ökaryot hücrelerin yaşamı için temel olan mitokondriler, organizmaların enerji ihtiyaçlarını sağlayan organellerdir. Her mitokondri biden çok sayıda DNA molekülü içermektedir. Omurgalılarda organel başına 5 ila 10 tane mitokondri DNA' sı bulunurken bitkilerde bu sayı 202ye kadar çıkmaktadır [85]. Mitokondri DNA' sı çift iplikli halkasal moleküller olup, prokaryotik canlılarda kovalent olarak kapalı formda bulunmaktadır. Ancak bazı alg türlerinde mitokondri DNA' sı doğrusal bir şekilde bulunmaktadır. Bazı bitki ve protozoa liner yapıda olup histon proteini içermez. Mitokondri DNA' sına boyut olarak baktığımız zaman farklılık göstermektedir. Çiçekli bitkilerde bulunan bazı mitokondri DNA' sı bakteri genomundan daha büyük olduğu belirlenmiştir.

Mitokondriyal DNA'dan transkripsiyon ile kendine özgü RNA' lar sentezlenir. İnsan mitokondriyal DNA' sında 37 gen bulunmakta ve bunlardan protein sentezi yapabilen 13 gen bölgesi tespit edilmiştir.

Memeli hayvanlarda mtDNA' nın, replikasyon sırasında meydana gelen mutasyonların tamir mekanizmasındaki eksiklik nedeniyle, çekirdek DNA' sından





Mitokondrilerde biyolojik aktivitelerin gerçekleştirilmesinde çekirdek tarafından kodlanan gen ürünleri ( DNA ve RNA polimeraz, translasyon için temel olan başlangıç ve uzama faktörleri, ribozomal proteinler, aminoaçil tRNA sentetaz) büyük önem taşımaktadır.

Hücresinin enerji kaynağı büyük oranda oksijenli solunum ile sağlandığından, mitokondri genomunda mutasyon sonucunda meydana gelen hasarlar, organizma üzerinde olumsuz bir etkiye neden olabilir. Mitokondri DNA'sı özellikle mutasyonlardan zarar görür. Mitokondri DNA'sının mutasyon oranı çekirdek genomundaki tek kopyalı DNA'ya göre daha yüksektir. Bunun iki sebebi vardır. İlki mitokondri DNA'sının hasar onarım yeteneğinin çekirdek DNA'sınıki ile eşdeğer değildir. İkincisi hücre solunumu sonrası oluşan yüksek oranda mutajenik etkiye sahip olan serbest radikallerin yoğunluğu, mitokondri DNA'sındaki mutasyon oranını artırmaktadır.

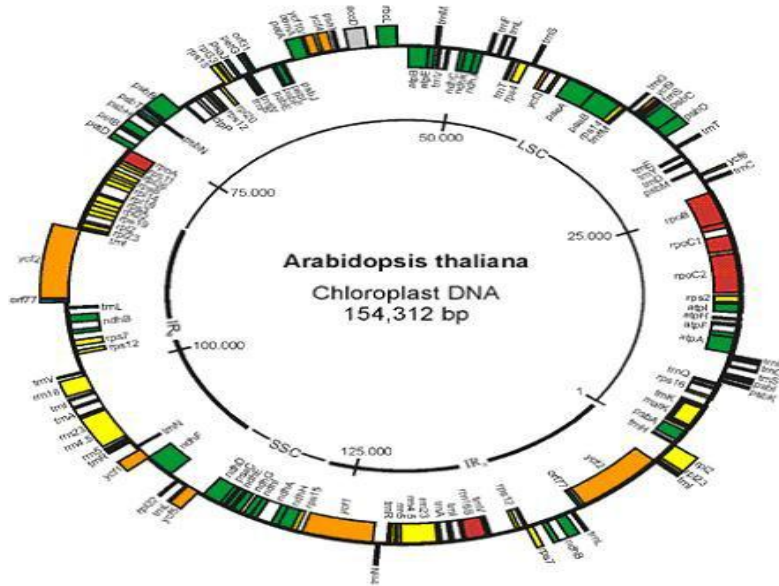
Mitokondri anasal kalıtım gösterir, yani ananın yumurta hücresi yoluyla yavrulara aktarılır. Zigot yumurtadan çok sayıda organel aldığı için bir yada birkaç organeli mutasyon içerse bile mutasyon etkisi normal işlevi olanlar tarafından büyük ölçüde hafifletilir. Zigotta meydana gelen hücre bölünmeleri başlangıçta bulunan mitokondri popülasyonunu birbirinden ayırır. Yeni oluşan hücrelerde bu organeller kendi kendilerine çoğalırlar [80,81].

### **1.7.2 Kloroplast Genomu**

Kloroplast doğada bitkiler aleminde bulunan ve fotosentezden sorumlu olan organeldir. Kloroplast genomu çift iplikli halkasal DNA moleküllerinden meydana gelmiştir. Kloroplast DNA'sı yarı koruyucu özellikte sentezlenir ve kendi protein sentezi aygıtına sahiptir. DNA molekülünün yapısı ve protein- DNA etkileşimi açısından prokaryotik hücreler ile büyük benzerlik gösterir. Kloroplastların translasyon aygıtının moleküler bileşenleri tamamen bağımsız değildir, hem çekirdeğe hem de kloroplasta ait genetik bilginin bir araya gelmesi ile tamamlanır. Kloroplast DNA'sı farklı organizmalar arasında tektir. Aynı organizmanın çekirdek

DNA'sı ile kloroplast DNA'sı karşılaştırıldığı zaman farklı baz yoğunluğu ve kompozisyonuna sahip olduğunu görmekteyiz.

Kloroplast DNA' sının boyutu mitokondri DNA'sınınkinden daha büyüktür. Bu boyut farklılığı; kloroplastlarda mitokondrilere göre taşınan gen sayısının fazlalığı, genler arasında ve içinde oldukça uzun kodlama yapmayan nükleotit dizisini taşıması, DNA dizisindeki duplikasyonlu bölgeleri içermesi ile açıklanabilir. Bitkiler arasında bu kodlama yapmayan dizilerin miktarlarında da farklılık bulunmaktadır. Bu da endosimbiyotik kuramı destekleyen ve ilkel ökaryotik hücrenin başlangıçta fotosentez mekanizmasına sahip bir siyanobakteri tarafından istila edilmelerini takiben zamanla organel olma yolunda geçirdiği bağımsız değişimin kanıtıdır.



Şekil 1.19 Kloroplast Genom

Kloroplastlar hücre içerisinde birden fazla kopya sayısı ile temsil edilmektedir. Aynı zamanda bir organel içerisindeki DNA molekülü de çok kopyalıdır. Yeşil alg olan *Chlamydomonas* 'da organel başına 45 kopya kloroplast DNA molekülü bulunmaktadır. Her bir kopya 195 kb'lik DNA boyutuna sahiptir. Daha yüksek bitkilerde her bir organelde DNA'lar çok kopyalıdır ancak molekülün boyutu *Chlamydomonas* 'dan kayda değer bir şekilde küçüktür. Bazı organizmalarda

kloroplasttaki çok kopyalı DNA molekülleri arasında bile genetik rekombinasyon olduğu bilinmektedir.

Kloroplast DNA'sının kodladığı sayısız gen ürünü organel içindeki protein sentezi sürecinde işlev yapar. Ancak düşük organizasyon seviyesindeki biryofitlerden olan ve halk arasında ciğerotu olarak bilinen *Marchantia polymorpha*'dan mısır gibi yüksek bitkilere kadar çeşitli bitkilerden kloroplast DNA'sı birbirinden farklı sayıda gen ürünlerini kodlayabilmektedir. Bu durumda kloroplast içinde meydana gelen bağımsız değişimin ispatıdır. Genellemenin yapacak olursak kloroplast DNA'sı üzerinde bulunan genler transkripsiyonda görevli olan RNA polimeraz enziminin alt ünitelerini, translasyonda görevli olan tRNA'ların tümünü, kloroplast ribozomlarına özgün birçok ribozomal proteini ve 5S, 16S ve 23S rRNA'ların şifrelenmesinden sorumludur. Kloroplastta ait ribozomların yapısı ve metabolik enzimleride daha çok prokaryotlarınkine benzemektedir. Ancak kloroplastta ribozomal proteinlerinin çekirdek DNA'sı tarafından kodlanmasına karşın, böyle proteinlerin çoğu stoplazmik ribozomlarda bulunanlardan farklıdır. Bu veriler endosimbiyotik kuramı destekleyen önemli bir kanıtı da sağlamaktadır [80,81].

### 1.7.3 Çekirdek Genomu

Ökaryotik genom çift iplikli doğrusal DNA moleküllerinden oluşmaktadır. DNA molekülleri bu gruptaki canlılarda çekirdek adı verilen zar ile çevrili bir organelin içerisinde histon proteinler, histon olmayan proteinler, yüksek hareket yeteneğinde olan proteinler ve RNA molekülleri ile bir araya gelerek kromatin yapısını oluşturmaktadır. Kromatinde tekrarlı birimler nükleozom yapılarını, nükleozomlar da hücre bölünmesi sırasında kendi etrafında katlanarak kromozomları oluştururlar. Her bir kromozom sentromer adı verilen, hücre bölünmesi sırasında kromozomların dağılımlarında işlevsel olan bir bölge bulundurur. Bununla birlikte ökaryot kromozomların uçlarında kromozomun korunmasında görevli olan telomer bölgeleri mevcuttur.

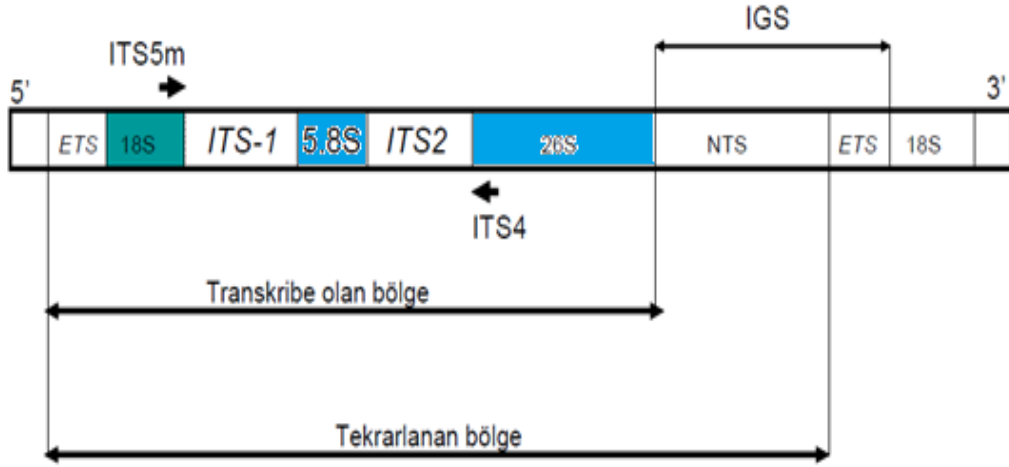
Ökaryotik genom çoğunlukla parçalı monosistronik gen yapısındadır. Yani genomda tek bir polipeptitin sentezinden sorumlu olan genlerde fazla sayıda intron bulunur ve intronlar transkripsiyondan sonra çok çeşitli mekanizmalarla uzaklaştırılır.

Ökaryotların tek kopyalı gen sayısı prokaryotik canlılarından fazladır. Fakat ökaryotik genomda tekrarlı DNA dizileri mevcuttur. Bu diziler genomda kümeler halinde yada dağılmış bir şekilde bulunmaktadır. Ökaryotlarda genom boyutu, bazı istisnalar dışında prokaryotlardan büyüktür. Örneğin insan genomunun boyutu 3000Mb iken, *Zeamays*(mısır bitkisi)'nin genom boyutu 4500Mb olduğu görülmektedir. Ökaryot organizmalarda genom boyutundaki farklılıklardan gen duplikasyonları, delesyon, inaktivasyon, kromozom içi düzenlemeler gibi mekanizmalar ve hareketli DNA elementleri sorumludur [80].

### 1.8 ITS ( İç Transkribe Olan Boşluklar)

Bazı sebeplerden dolayı bitki türlerinin doğal ortamlarda tanımı ve teşhisinde zorluklar yaşanmaktadır. Anahtarlarda kullanılan fenetik karakterler bazen ayırt edici olmamakla birlikte yanıltıcı olmaktadır. Yapılan pek çok araştırma bazı bitkilerin yanlış tanım ve teşhisinin olduğunu bulmuştur. Moleküler biyolojideki son yapılan çalışmalarda türe özgü gen bölgelerinin bulunmasıyla bitki türlerinin teşhis edilmesine yardım etmiştir. Bu sebepten rDNA'nın ITS bölgeleri, bitki moleküler sistematik çalışmalarda sıklıkla başvurulan yöntemlerdir[82]. ITS, iki iç boşluk ITS-1 ve ITS-2, 5,8S, 18S ve 26S nükleer ribozomal RNA (nrRNA) alt ünitelerini kodlayan genlerin arasına yerleşmiştir. ITS-1 ve ITS-2 yaklaşık 300 bç uzunluğundadır. 5,8S alt ünitesi ise 164 bç uzunluğundadır[83]. ITS bölgesinin her iki tarafında korunmuş diziler vardır. Bu sebepten evrensel primer olarak kullanılır. Ayrıca PZR çalışmalarında kolayca elde edilebilmektedir[83]. Bu amaçla kullanılan evrensel ITS primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri şekilde gösterilmiştir. rDNA genleri, kopya edilemeyen bölgeleri (IGS) ve ITS bölgelerinin varlığı ile birbirinden ayrılmıştır. IGS bölgeleri, komşu rDNA tekrar birimler arasında yer alır. ETS, ribozomal mRNA ile kodlayan dış kopya bölgesidir ve onun promotor

bölgesini ihtiva eder. NTS ise tekrar birimler arasında yerleşmiş kodlanmayan bölgedir[82].



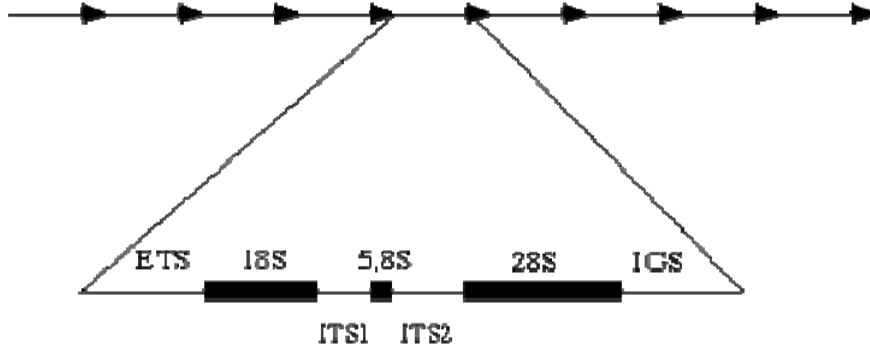
Şekil 1.20 Çekirdek ribozomal DNA'sının tekrarlı üniteleri [84].

### 1.8.1 ITS 'nın Genel Özellikleri

1-) Ökaryot organizmalarda 5,8S gen bölgesi, çoğunlukla ITS bölgeleri ile birlikte değerlendirilir. Bütün bir bölgenin uzunluğu yaklaşık 600 ile 700 bp arasındadır.

2-) ITS bölgeleri, rDNA'nın, 18S, 5,8S ve 28S alt birimlerinin oluşumu sürecinde rol alır.

3-) Bu bölgenin korunmuş rDNA bölgesine göre fazla değişim gösterdiği belirtilmiştir. Bu sebepten ITS filogenetik çalışmalarda bize çözüm yolu sunmaktadır[83].



Şekil 1.21 ITS1 ve ITS2 bölgelerinin görünümü.

### 1.8.2.ITS Bölgesinin Flogenetik Çalışmalarda Kullanılışı

ITS bölgeleri filogenetik ve biyocoğrafik çalışmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bunun sebebi bu bölgeler filogenetik çalışmalarda yeterli veri verebilecek büyüklüktedir. Cins ve tür seviyesindeki çalışmalar için ileri derecede korunmuş rDNA bölgelerine komşudur. Bazı bitki gruplarında ITS1 ve ITS2'de yüksek oranda varyasyonlarla karşılaşırken, bazılarında nükleotit varyasyonun az bir dizisine rastlanmaktadır. Çoğu gruplarda ITS dizilerinin, cpDNA baz dizinlerinden çok daha fazla değişkenlik gösterdiği ve daha bilgi verici olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca genomik DNA da yüksek kopyaya sahiptirler. Homolog olmayan kopyaları nokta mutasyonu ve delesyon şeklinde bulunabilmekte ve bir türün bireyleri arasında küçük varyasyonlara sebep olmaktadır. Ayrıca ITS bölgelerinin küçük boyutta olması sebebiyle PZR ile kolayca çoğaltılabilmektedir. Bu sebepten filogenetik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir [83].

### 1.9 Filogenetik Analiz ve Ağaç Oluşturma

Organizmaların köken tarihi filogeni olarak adlandırılır. Filogenetik analiz çeşitli türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilir. Moleküler filogenetik çalışmalar, DNA ve proteinlerde oluşan değişikliklerin hızını ve karakterini belirtmeye ve böylece genler ve organizmaların köken tarihini incelemeye yöneliktir. Filogenetik incelemelerde türler arasında bulunan evrimsel

bağı göstermede en uygun ve elverişli analizler ile filogenetik ağaca dönüştürülmesidir [102].

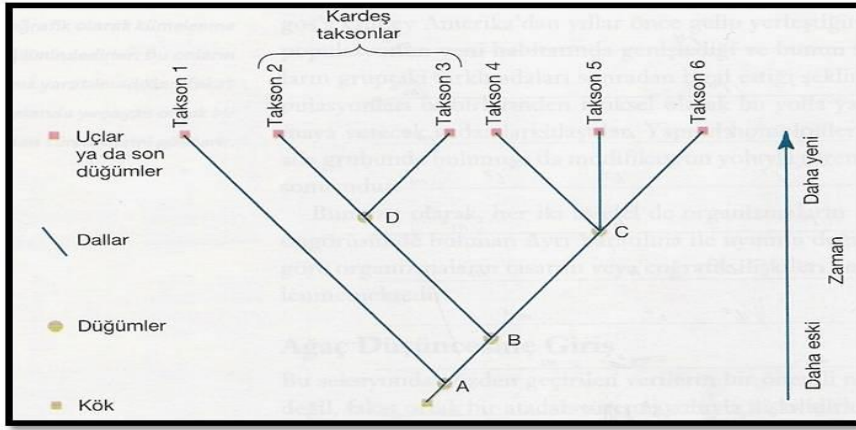
Filogenetik analizlerde ilk adım incelenecek dizinin elde edilmesidir. Daha sonra bu diziler istenirse referans dizi denilen daha önce saptanmış ve üzerinde uzlaşılarak doğruluğuna karar verilmiş dizilerle karşılaştırılabilir. Son yıllarda moleküler filogeni alanında kaydedilen gelişmeler neticesinde çeşitli türlerden elde edilen diziler GenBank, EMBL gibi özel veritabanı sistemlerinde toplanarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur [98].

Moleküler filogenetik analiz temel olarak dört basamakta gerçekleştirilir. Bu basamaklar:

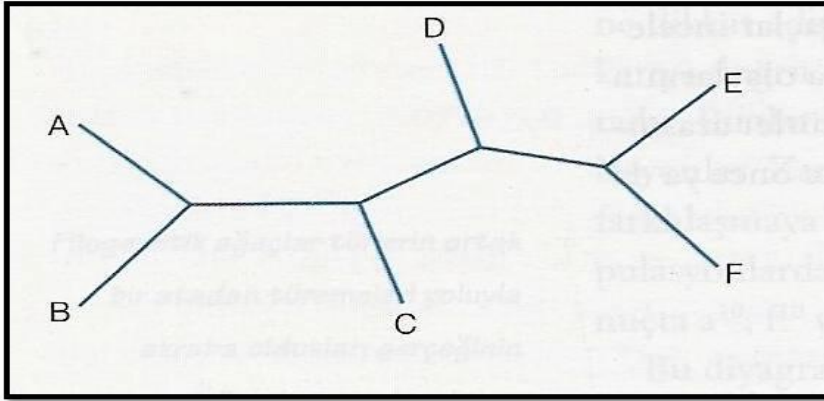
1. Hizalama
2. Yer değiştirmenin saptanması
3. Filogenetik ağacın oluşturulması
4. Filogenetik ağacın değerlendirilmesi

Dizilerin hizalanması sonucu elde edilen hesaplanmış genetik uzaklık, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılmaktadır. Bu mesafeler sayesinde filogenetik ağaç oluşturulabilir [95]. Bir filogenetik ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Ayrıca türleşme sırasının ve taksonlar arasındaki akrabalığı kaydeder. Ağaçlar dallardan ve düğümlerden oluşmaktadır. Dallar, türler arasındaki populasyonun zaman içerisindeki uyumunu gösterir. Filogenetik ağaçlar köklü ya da köksüz olabilirler. Köklü ağaçlarda soy hattının nereden köklendiği bilindiği için ayrılma olayının belirlenmesi yapılabilir. Köksüz ağaçlarda, buna karşın türlerin önce ya da sonra açığa çıktığı ifade edilmez [96]. Filogenetik ağaç oluşturulurken genellikle üç yöntem kullanılır. Bu yöntemlerden ikisi karakter temelli yöntemler olarak bir başlık altında toplanabilen Maksimum parsimoni ve Maksimum Benzerlik yöntemleridir. Diğerisi ise uzaklık yöntemidir.





Şekil 1.22 Filogenetik Ağaç Çizimi [96].



Şekil 1.23 Köksüz Ağaç [96].

### 1.9.1 Maximum Parsimony: MP Yöntemi

Parsimoni, bir gözlemin en az karmaşık olarak açıklanması şeklinde tanımlanır. İncelenen diziler yada genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gerekli en az mutasyonların saptanmasına dayanan yöntemdir. Diğer bir anlam olarak tutumluluk olarak tanımlanabilme, bunun anlamı biyolojik değişim süreç boyunca karmaşıklık yerine basit bir açıklama yaparak verilerin yorumlanmasıdır.

MP yöntemi uygulanırken, dizi pozisyonlarının farklı puanlamaları tercih edilebilir. Örneğin; korunmuş bölgede gerçekleşen bazı mutasyonlar, değişken bölgedeki mutasyonlardan daha çok vurgulanmak istenebilir. Ya da transversiyonlar transisyonlardan daha önemli olarak vurgulanabilir.

MP analizi ile en iyi sonuçlar dizi çiftleri arasındaki benzerliklerin çok güçlü olduğu ve az sayıda dizinin olduğu durumlarda alınır. MP ile ağaçların oluşturulmasında ‘kesin’ ve ‘tahmini’ yaklaşımlar sözkonusu olmaktadır. Kesin yaklaşımda olası tüm ağaçlar gözden geçirilir ve kullanılan optimalite ölçütüne en uygun ağaç belirlenir. Çok zaman alıcıdır ve yirmiden fazla örnekleme varlığında uygun değildir. Çok sayıda dizinin bulunduğu durumlarda ‘tahmini’ yaklaşım uygulanmaktadır.

En tutumlu ağaçların güvenilirlik dereceleri istatistiksel olarak da değerlendirilebilir. Bu probleme yönelik yaklaşımlardan biri seç-bağla testi (bootstrapping) olarak adlandırılır. Seç- Bağla testi, belli bir ağaç üzerindeki dallardan hangilerinin diğerlerine göre daha iyi desteklendiklerini değerlendiren bir tekniktir. Seç-Bağla testinde, bilgisayar mevcut veri setinden tekrarlı örnekleme yoluyla yeni bir veri seti oluşturur [96].

### **1.9.2 Maximum Likelihood: ML Yöntemi**

Joseph Felsenstein tarafından 1981 yılında MP’ye alternatif olarak ortaya konulmuş bir yöntemdir [97]. Araştırmacıya sunulan bütün bilginin daha etkili kullanmak ve olası birçok ağaç içerisinde en iyi ağacı seçmede istatistiksel testler kullanma olanağı oluşturmak için ortaya konmuştur.

Moleküler filogeniler için olasılık yaklaşımının temeli şu soruyu sormaktır: farklı tipteki nükleotit değişikliğinin açığa çıkma olasılıklarını tanımlayan bir matematiksel formül ve dal uzunlukları bilinen belli bir ağaç verildiğinde, bu belli DNA dizisi setini elde etme olasılığı nedir? Bu stratejiyi hayata geçirmek için, bir bilgisayar programı her ağaç topolojisini değerlendirir veya gözlenen verinin oluşturulması olasılığını hesaplar (verilen belirlenmiş bir karakter modeli altında). Eğer ağaç doğruysa her dalın oluşturulma olasılıkları toplamı, gözlenen verinin oluşturulması olasılığını temsil eder. Bu olasılık ağaçlarının olasılığı olarak rapor edilir. Öyleyse, yarışan ağaç topolojilerinin kabul ya da reddi için kriter en yüksek olasılığı olan ağacı seçmektir. Maalesef, olasılık metotları hesaplamada yavaşlırlar ve bu

teknikle çok büyük veri setleri, daha hızlı parsimoni metotları kullanılarak yapıldığı kadar, kapsamlı analiz edilemezler [96].

### 1.9.3 Uzaklık (Distance) Yöntemi

Genetik uzaklık yöntemi filogenetik ağacı oluşturmak için dizi grubunda her bir çift arasında değişikliklerin sayısını temel alır. Birbirlerine genetik uzaklığı en az olan türler birleştirilerek bir ağaç oluşturulur. Aralarında az sayıda nükleotid değişikliği olan bu dizi çiftleri komşu (neighbours) olarak adlandırılır. Uzaklık metodları ile hizalanan diziler arasındaki farklılıkların miktarına göre ağaç oluşturulur. Ağacın dalları boyunca ortaya çıkan değişiklik sayısı diziler arasındaki uzaklığı gösterir [98]. Tercih edilen ağaç, taksonlar arasındaki mesafeyi en aza indirgeyen ağaçlardır [96].

Olasılık metotlarında olduğu gibi, uzaklık analizleri de araştırmacıların çoklu karakterlerden gelen bilgiyi iki takson arasındaki tek bir bütün uzaklığın ölçümüne çevirmek için bir karakter evrim modeli öngörmelerine gereksinim duyar. DNA dizileri için yaygın biçimde kullanılan bir formül, aynı yerdeki çoklu baz değişimleri için transisyon ve transversiyon baz değişimlerinin frekansındaki farklılıkları düzeltir [99,100].

Uzaklık verisinden bir filogeni tahmini yapmak için, taksonları kümeleyen bir bilgisayar programı kullanılır; yani, en benzer biçimli sonuçlar arasında biri diğerine yakın ve benzer bulunur. Taksonları kümelemeyi benzerlikler temelinde yapan bu genel stratejiye fenetik yaklaşım adı verilir [101]. Tercih edilen ağaç, taksonlar arasında toplam mesafeyi en aza indirgeyen ağaçtır. Birkaç farklı kümeleme algoritması yaygın biçimde kullanılmakta olup, analiz edilen mesafenin doğası konusunda az ya da çok sınırlayıcı öngörülerde bulunabilirler [96].

Uzaklık yöntemi diğer yöntemlerden daha kolay ve hızlı olmaktadır. Bu yöntemde ayrıca çok sayıda dizi kullanılmaktadır. Bunlar içinde en çok kullanılanlar aşağıda belirtilmiştir.

- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)
- Neighbour Joining (NJ)
- Fitch-Morgoliash (FM)

#### **1.9.4 Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Programlar**

Filogenetik alanında çalışan akademisyenler ve bu alanda program geliştirenler genellikle MAC kullanmaktadırlar. Her ne kadar programların PC versiyonları mevcut ise de MAC versiyonları daha ileri ve üst sürümdürler. Filogenetik ağaç oluşturulmasında kullanılan PAUP, PHYLIP, MRBAYES'dir.

#### **1.9.5 Dizileme ve Dizi Analizi**

Çoğaltılan ITS bölgelerinin DNA dizilerini elde etmek için, PCR ürünleri dizilemeye Refgen firmasına Ankara'ya gönderildi. Dizi analizi için ücretli profesyonel bir bilgisayar programı olan Sequencher kullanıldı. Kontiglerin durumlarına bakılarak DNA dizileri işlendi ve konsensus dizileri oluşturuldu. Oluşturulan konsensus dizileri Word'e kopyalandı ve dizi hizalaması için kullanıma hazır hale getirildi. Dizi hizalaması için internet üzerinden ücretsiz olarak kullanılabilen ClustalW programı kullanıldı. Word'e kopyalanan diziler ClustalW programına yapıştırıldı ve gerekli komutlar verilerek dizi hizalaması gerçekleştirildi.

## 2.MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri

Çalışmamızda kullanılan bitki örnekleri genellikle Prof. Dr. Hasan ÖZÇELİK tarafından toplanarak bize gönderilmiştir. Bu bitkilerin isimleri ve toplandığı alanlar aşağıda ki çizelgede verilmiştir.

**Çizelge 2. 1** Çalışılan Türler ve Toplandığı Lokaliteler

Çalışılan Türler	Toplandığı Lokalite	Toplayan ve Toplama No
<i>Silene leptoclada</i>	ISPARTA: Dedegül Dağı, Pınargözü mesireliği, üzeri, alpinik step, 2400-2800 m, C3, 20.08.1995,	Özçelik 7294.
<i>Silene. İncliniata</i>	ERZURUM: Erzincan-Erzurum karayolu, Erzurum'a 80 km kala, step, N: 39050' 298, E: 0400 34' 048, 1900-2000 m, B8, 02.07.2006	Özçelik 12424.
<i>Silene balansae</i>	KAYSERİ: Sarız, Binboga Dağları Ziyaret tepesi mevkii üst kesimleri (N:380 25' 348 E: 0360 33' 964), kayalık yerler, 1950-2300 m, B6 14.07.2005	Kılıç & Özçelik 679
<i>Silene argaea</i>	KAYSERİ: Erciyes Dağı, Çanak mevkii, N: 380 31' 758, E: 0350 28'942, hareketli kayalıklar, 2700-3000 m (-32000), B5 17.07.2005	Kılıç & Özçelik 674

<i>Silene akmaniana</i>	KAYSERİ: Pınarbaşı-Sarkısla (Sivas), Kavak Köyü üst kesimleri (N: 390 01' 365, E: 0360 20' 174), kayalıklar ve kaya kırıntıları, 1850-1900 m, B6, 29.07.2006	Kılıç 700
<i>Silene rhynchocarpa</i>	ISPARTA: Aksu, Yaka köyü, Yenişarbademli yolu, orman parkı civarı, yamaçlar, 1700 m, C3 04.06.1995	Özçelik 7080.
<i>Silene brevicaulis</i>	ADİYAMAN: Besni-Erkenek arası, Reşadiye Geçidi (N: 37055'517, E: 037054'336), kayalıklar, 1350-1500m, B7 01.07.2006	Özçelik, 12283
<i>Silene azirensis</i>	ERZİNCAN: Keşiş Dağı, Esentepe mevki (N: 390 49', E: 0390 38'), serpantin, hareketli molozlar, 2700-3000 m, B7	Kılıç 691
<i>Silene ruscifolia</i>	VAN: Van'dan Çatak'a doğru, Çatak'a 35-40 km kala, step, 2150 m, B9 15.06.2002	Özçelik 9345.
<i>Silene denizliense</i>	DENİZLİ: Denizli-Tavas Kızılcabölük Çakıroluk mevki, Radyoling hattı civarı, kayalıklar, 1600-1700 m, C2 21.07.2004	Kılıç 68
<i>Silene lucida</i>	KÜTAHYA: Gümüş Dağı, Abide Köyü civarı, alpinik çayır ve step, yamaçlarda, 1650-1800 m, B2 09.08.1999	Özçelik 8245.
<i>Silene glandulosa</i>	ISPARTA: Davraz Dağı, kayak pisti üstleri (N: 370 45' E: 0300 45'), hareketli kayalıklar, 2000-2200 (-2300) m, C3 27.07.2005	Kılıç & Özçelik 668

<i>Silene caucasica</i>	VAN: Gevas-Tatvan arası, Pelli Dağı (N: 380 23' 995, E: 0420 46' 637), 2600-2775 m, B9 13.07.2006	Özçelik 12498.
<i>Silene erimicana</i>	VAN: Gevas, Pelli Dağı (N: 380 23' 995, E: 0420 46' 637), kayalık yerler, 2600-2700 m, B9 21.07.2006	Özçelik 12500.
<i>Silene oligotricha</i>	TUNCELİ: Pülümür-Mutu arası, zirve karakol civarı, 1700-2000 m, B7 08.07.2006	Özçelik 12447
<i>Silene araratica</i>	GAZİANTEP: Gaziantep- Şanlıurfa karayolu, Şanlıurfa'ya 60 km, step, 780 m, C6 28.07.2000	Özçelik 8560

### 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. Çalışmamızda bazı bitki türlerinin DNA'sı SIGMA G2N70 Plant Genomic DNA Miniprep Kit ile izole edilmiştir.

### 2.1.3 Genomik DNA izolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan örnekler Dellaporta ve arkadaşlar tarafından geliştirilen ve modifiye edilen yöntemle genomik DNA elde edilmiştir. İzolasyon için kullanılan tüm kimyasallar Çizelgede gösterilmiştir. Diğer örneklerden genomik DNA izolasyonu ise sigma kiti protokolüne uygun olarak yapılmıştır.

**Çizelge 2.2** Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler ve Özellikleri

Çözelti	Kompozisyon
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

#### 2.1.4 PZR'de ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar

PZR'de kullanılan kimyasallar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Çizelge 2.3** PZR'de ( Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Adı	Miktarı	Konsantrasyonu
DNA	4	-----
MgCl <sub>2</sub>	3	25 mM
ITS-4	5	pmol / mL
ITS-5	5	pmol / mL
dNTP	0,8	10 mM
dH <sub>2</sub> O	23,4	-----
Taq DNA Polimeraz	0,6	5 Ünite



DMSO	3	-----
NH4SO4 Tamponu	5	10X
TOPLAM	50	

### 2.1.5 PZR' de kullanılan Primerler ve Özellikleri

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullandığımız primerler biyoteknoloji firmalarından temin edilmektedir. Primerler laboratuara gelir ve yaklaşık 30 sn 13.000 rpm'de satrifüj yapılarak kuru çökeltinin tüpün dibinde toplanması sağlandı ve 1 ml dH2O içerisinde çözülerek stok hazırlandı. Her bir primerin son konsantrasyonu 50 nmol olacak şekilde sulandırıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin DNA dizileri, erime sıcaklıkları (Tm) Çizelge'de verilmiştir.

**Çizelge 2. 4** PZR'de Kullanılan Primerler ve Özellikleri

Primerler	Nükleotid Dizisi(5'-3')	Tm Sıcaklığı
ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	52.1 °C
ITS-5	GGAAGGAGAAGTCGTAACAAG	55.0 °C

### 2.1.6 Agaroz Jel Elektroforez Tamponları

Agaroz jel elektroforezi DNA parçalarının ayrılması, tanımlanması ve saflaştırılması için kullanılan metottur. Bilim adamları DNA moleküllerinin ağırlıklarının logaritmalarına ters orantılı olduğu göstermişlerdir[94]. Çoğunlukla jel elektroforezinde bilinen büyüklükteki bir belirteç DNA ile uygulanır. Bu sayede moleküler olarak büyüklüğü bilinmeyen DNA molekül büyüklüğü kolay bir şekilde saptanmaktadır. Jelde, DNA bantları Etidyum Bromid (EtBr) ile boyanmıştır. Bu

sayede bu ajan bize DNA molekülünün U.V altında rahat ve belirgin görmemizi sağlamaktadır.

**Çizelge 2.5** (0,5)xTBE (Tris-Borate) Tampon

<b>Stok solüsyon</b>	<b>Son Konsantrasyon</b>
1M Tris-borate	0,045M
0.5M EDTA (pH 8)	0,001M

## **2.2 Metotve Yöntem**

### **2.2.1 Cam Malzeme ve Plastik Malzemenin Hazırlanması**

Isıya dayanıklı malzemeler, pipet uçları, ependorf tüpleri (mikrosantrifüj tüpleri), santrifüj tüpleri, solüsyonlar, ve cam malzeme 121°C’ de 20 dakika (1 atm basınçta) otoklavda steril edildi. 2 saat 80°C’ de kurutma amacıyla etüvde bekletildi.

### **2.2.2 Genomik (gDNA)İzolasyonu**

Genomik DNA izolasyonu için Fenol- Kloroform metodu uygulandı. Bu metodun aşamaları şu şekildedir:

1-) Taze yapraklar veya herbaryum örneklerinden yaklaşık 1-2 g alınarak havanda sıvı azot ile toz haline getirildikten sonra ependorf tüpün yaklaşık 200ul’ lik seviyesine kadar doldurulur. Sıvı azot uçtuktan sonra 600ul izolasyon tamponu eklenerek 5dk alt üst edilir.

2-) Üzerine 500ul Fenol-Kloroform-İzoamil alkol eklenir. 5 dk alt üst edilir.

3-) 12000 rpm’de 5 dk. santrifüj yapılır.

4-) Üstteki süpernant 500ul lik temiz bir tüpe aktarılır. Alttaki posa atılır.

5-) Üstteki süpernant hacminin %10’u kadar 3M Sodyum Asetat (ph:5,2) eklenir.

6-) Üstüne 1 süpertanant hacmi kadar oda sıcaklığında olan izopropanol eklenip alt üst edilir.

7-) 12000 rpm 'de 2dk. çöktürülür. Oluşan pellete zarar vermeden süpertanant atılır. Oluşan pellet üzerine 500ul TE (ph: 8) eklenerek pipetajla pellet tamamen çözülür.

8-) Bu çözelti için 5 ul RNazA eklenerek alt üst edilir, pipetaj yapılır.

9-) 37 °C'de 30 dk. inkübe edilerek RNA'nın uzaklaşması sağlanır.

10-) Tekrar 50 ul NaAc eklenip alt üst edilir.

11-) 1000 ul %90'lık ETOH eklenerek alt üst edilir.

12-) Karışım -80 °C'de 10 dk. bekletilir.

13-) 13000 rpm' de 10 dk. santrifüj edilir. DNA'nın çökmesi sağlanır.

14-) Pellete zarar vermeden süpertanant atılır.

15-) Kalan çökeltiye %70'lik ETOH'den 1000 ul konularak pipetaj yapılarak yıkanır. 12000 rpm'de 2 dk. santrifüj yapılır ve süpertanant atılır.

16-) Oluşan çökeltinin ETOH tamamen uzaklaştırıldıktan sonra oluşan genomik DNA çözeltisi 50 ul TE ya da 200 ul saf su eklenerek pipetaj ile çözülür.

### **2.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR)**

Polimeraz zincir reaksiyonları in vitro ortamlarda belli DNA dizilerini çoğaltılması prensibidir. Bu basit ve hassas bir tekniktir[86]. Bu teknik yardımı ile çok az oranda bulunan nükleik asitlerin çoğaltılması gerçekleşmektedir. PCR yöntemi günümüzde virüs, mantar, parazit, protozoa gibi hastalık etmeni olan birimlerin uygun primerler, enzim ve komplementler ile çoğaltılması ile hastalık teşhisinde kullanılan güvenilir tekniktir. PCR yardımı ile pek çok biyolojik çalışmalar yürütülmektedir. Örneğin gen haritalaması çalışmaları, fosil örneklerden

alınan DNA'nın çoğaltılmasında, populasyon genetiği çalışmalarında, filogenetik çalışmalarda, viral enfeksiyon teşhisi gibi pek çok alanda kullanılan özgün biyolojik tekniktir [87]. Bu teknik üç basamakta gerçekleşmektedir. Birinci basamak denaturasyondur. Bu aşamada çift zincirli kalıp DNA yüksek sıcaklıkta ( 92-95) birbirinden ayrılır [88]. İkinci basamak primerlerin uygun sıcaklıkta (40-55) nükleotidlere karşılık gelmesidir[89]. Son basamak uzama basamağıdır. Bu basamak'ta zincir üzerine yapışan primerlerin 72°C sıcaklıkta polimeraz enzim yardımı ile bağlanmasıdır [90].

PZR toplam reaksiyon hacmi 25 uL olacak şekilde aşağıdaki bileşenler bir PZR tüpüne konuldu. Reaksiyonda ITS4m (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), ITS5m (5'- GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3') primerleri kullanıldı. Karışıma en son enzim eklendi. PZR'de kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi.

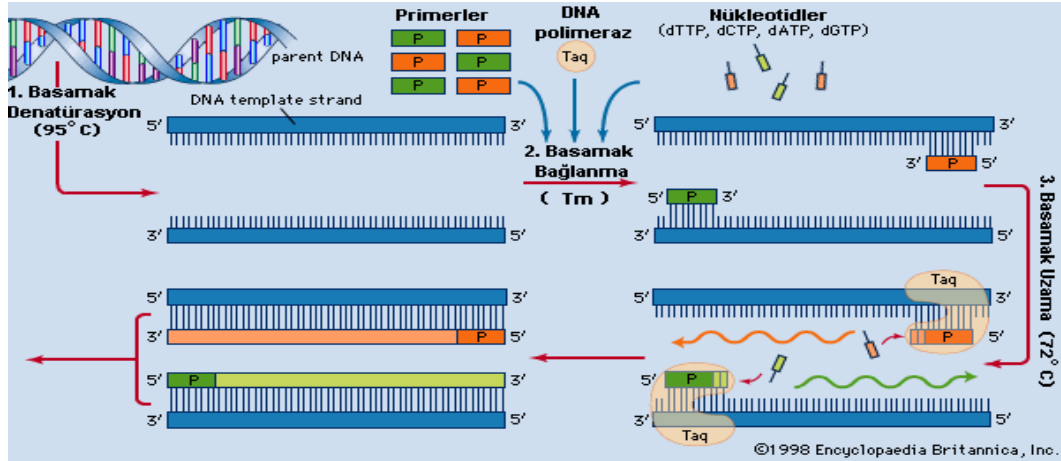
PZR reaksiyonu aşağıdaki gibi düzenlendi:

Steril distile su	10,8 uL
dNTP (10mM)	0.4 uL
PZR buffer	2,5 uL
Primer Forward (50 pmol/VL)	2,5 uL
Primer Reverse (50 pmol/VL)	2,5 uL
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1,5 uL
Kalıp DNA	2 uL
Taq DNA Polimeraz	0,3 uL
DMSO	2,5 uL

PZR tüpüne konan bu bileşikler daha sonra PZR aletine yerleştirildi ve uygun program seçilerek reaksiyon başlatıldı.

Çizelge2.6 PZR Reaksiyonları

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön Isıtma	94 C °/ 5 dak.	1 Devir
1. Basamak	94 C °/ 45sn.	35 Devir
2. Basamak	51 C °/ 45sn	35Devir
3. Basamak	72 C °/ 2 dak.	35 Devir
4. Basamak	72 C °/ 10 dak.	1 Devir
5. Basamak	4 C °/ 24 saat	



Şekil 2.1PCR Döngüsü Asamaları [91].

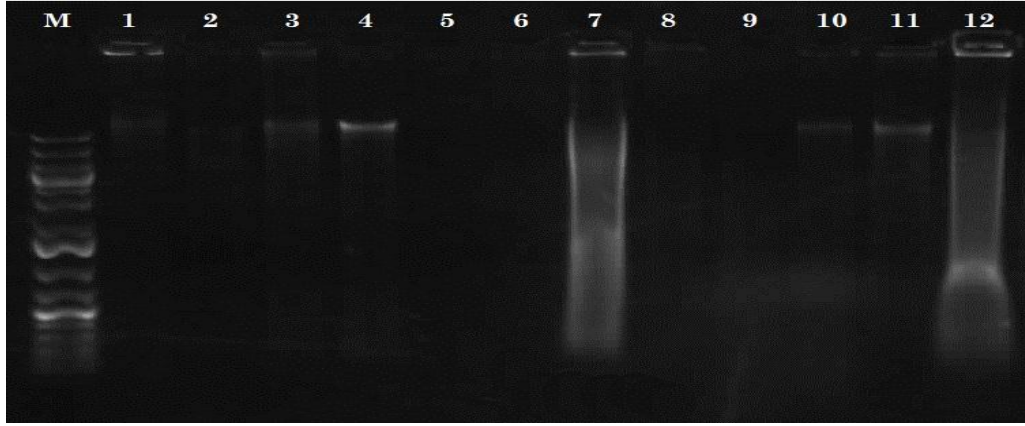
## 2.2.4 PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

PZR reaksiyonundan sonra elde edilen ürünler %0.8'lik agaroz jel elektroforezinde görüntüledikten sonra PZR ürünü dizi analizine için gönderilir. Örneklerden dizi analizi elde etmek için hem ITS-4, hem de ITS-5 primerleri kullanılarak her iki taraftan da okunur. Örnekler Refgen(ANKARA) gibi dizi analizi yapan şirketlere gönderilir. Elde edilen veriler BioEdit ve Sequencing dizi sıralama editörü ile kontrol edildi. Sol (5', forward) ve sağ (3' revers) primerler ile okunan diziler eşleştirildi ve filogenetik ağaç oluşturmak için kullanıldı.

### 3. BULGULAR

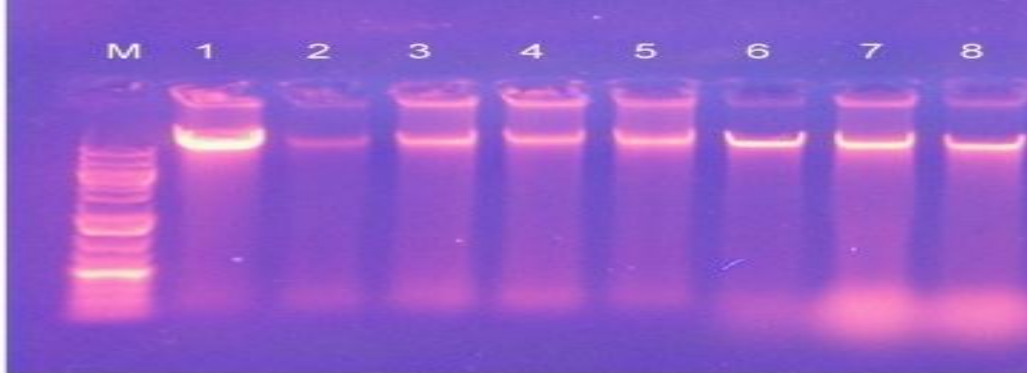
#### 3.1 ITS Bölgesinin Dizilenmesi

Çalışmada kullandığımız *Silene* örnekleri Prof. Dr. Hasan ÖZÇELİK tarafından çeşitli lokalitelerden toplanmıştır. Çalışmada kullanılan *Silene* türlerinin önce genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Daha sonra PZR reaksiyonu ile ITS bölgeleri çoğaltıldı. Dizi analizi için hazır olan örnekler analiz için şirketlere gönderildi. Her örneğin DNA dizisi hem ITS4 hem de ITS5 primerleri ile çift yönlü okutuldu.



Şekil 3.1 Örneklerin Genomik DNA görüntüleri

- |                          |                                   |                            |
|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 1-) <i>S. leptoclada</i> | 5-) <i>S. akmaniana</i>           | 9-) <i>S. brevicaulis</i>  |
| 2-) <i>S. balansae</i>   | 6-) <i>S. rhynchoarpa</i>         | 10-) <i>S. azirensis</i>   |
| 3-) <i>S. inclinata</i>  | 7-) <i>S. arar. ssp. arartica</i> | 11-) <i>S. ruscifolia</i>  |
| 4-) <i>S. argaea</i>     | 8-) <i>S. arar. ssp. davisii</i>  | 12-) <i>S. denizliense</i> |

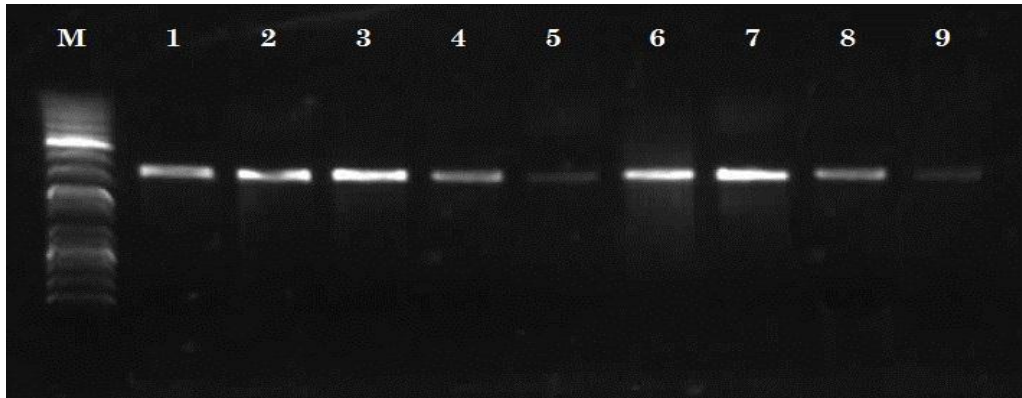


**Şekil 3.2** Örneklerin Genomik DNA görüntüleri

- |                                  |  |
|----------------------------------|--|
| 1-) <i>S. lucida ssp. lucida</i> | 5-) <i>S. oligotricha</i>              |
| 2-) <i>S. glandulosa</i>         | 6-) <i>S. akmaniana</i>                |
| 3-) <i>S. caucasica</i>          | 7-) <i>S. rhynchoarpa</i>              |
| 4-) <i>S. erimicana</i>          | 8-) <i>S. araratica ssp. araratica</i> |

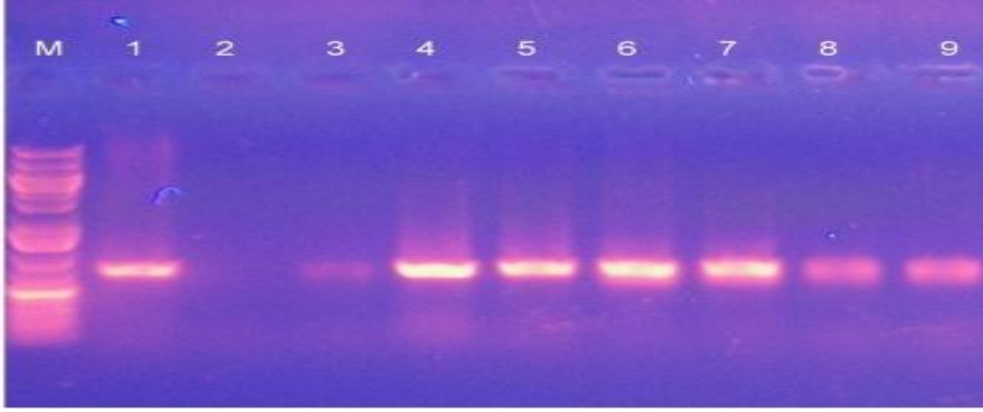
Örneklerin genomik DNA izolasyonu jel görüntüleri Şekil 3.1 ve 3.2 de gösterilmiştir.

Dizi analizine gönderilmek için hazırlanmış örneklerin PZR görüntüsü aşağıdaki Şekil 3.3 ve 3.4 de gösterilmiştir.



**Şekil 3.3** Örneklerin PZR Görüntüsü

- |                          |                                       |                           |
|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| 1-) <i>S. leptoclada</i> | 5-) <i>S. akmaniana</i>               | 9-) <i>S. brevicaulis</i> |
| 2-) <i>S. balansae</i>   | 6-) <i>S. rhynchoarpa</i>             |                           |
| 3-) <i>S. inclinata</i>  | 7-) <i>S. araratica ssp. arartica</i> |                           |
| 4-) <i>S. argaea</i>     | 8-) <i>S. araratica ssp. davisii</i>  |                           |



**Şekil 3.4** Örneklerin PZR Görüntüsü.

1-) *S. lucida ssp. lucida*

5-) *S. oligotricha*

9-) *S. glandulosa*

2-) *S. glandulosa*

6-) *S. akmaniana*

3-) *S. caucasica*

7-) *S. rhynchocarpa*

4-) *S. erimicana*

8-) *S. brevicaulis*

### 3.1.1 Verilerin Değerlendirilmesi

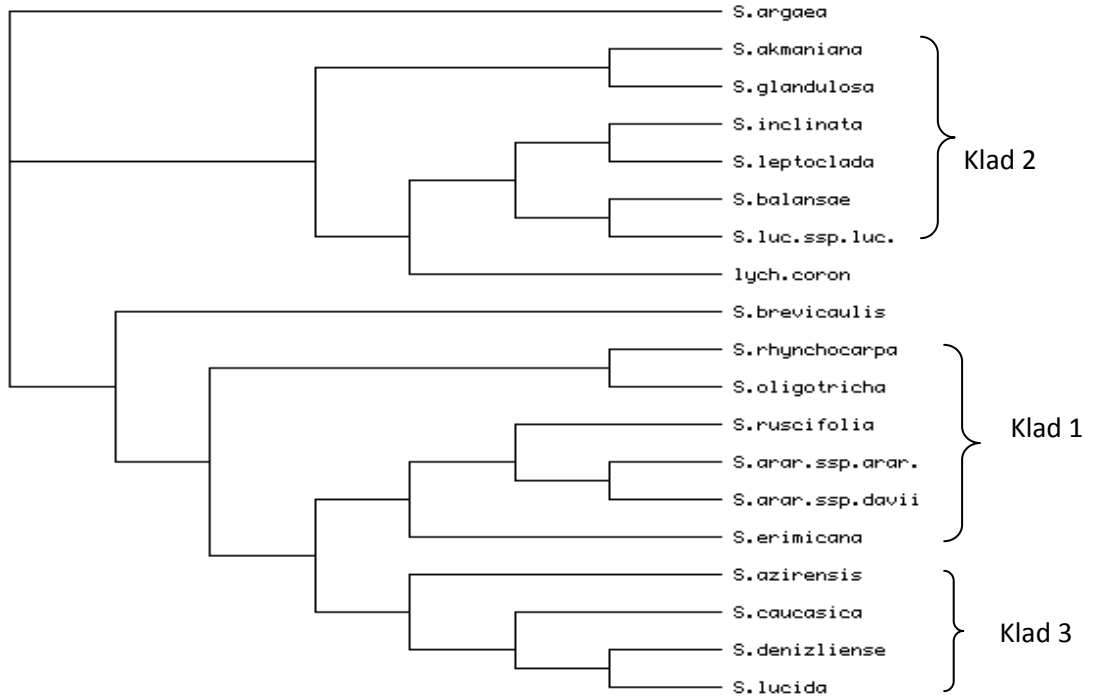
Sonuçların değerlendirilmesi amacıyla dizi analizi sonucu ilk olarak NCBI veri tabanında nükleotid BLAST yapılarak kontrol edildi. ITS4 ve ITS5 primerleri kullanılarak elde edilen ITS bölgesi nükleotid dizilerinden, PAUP4,0 gibi programyardımı ile filogenetik ağaç oluşturulur.



#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Branch-and-bound search completed:  
Score of best tree found = 801  
Number of trees retained = 45  
Time used = 17.93 sec

Tree number 1 (rooted using default outgroup)



**Şekil 3.5** Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 1. Nolu ağaç

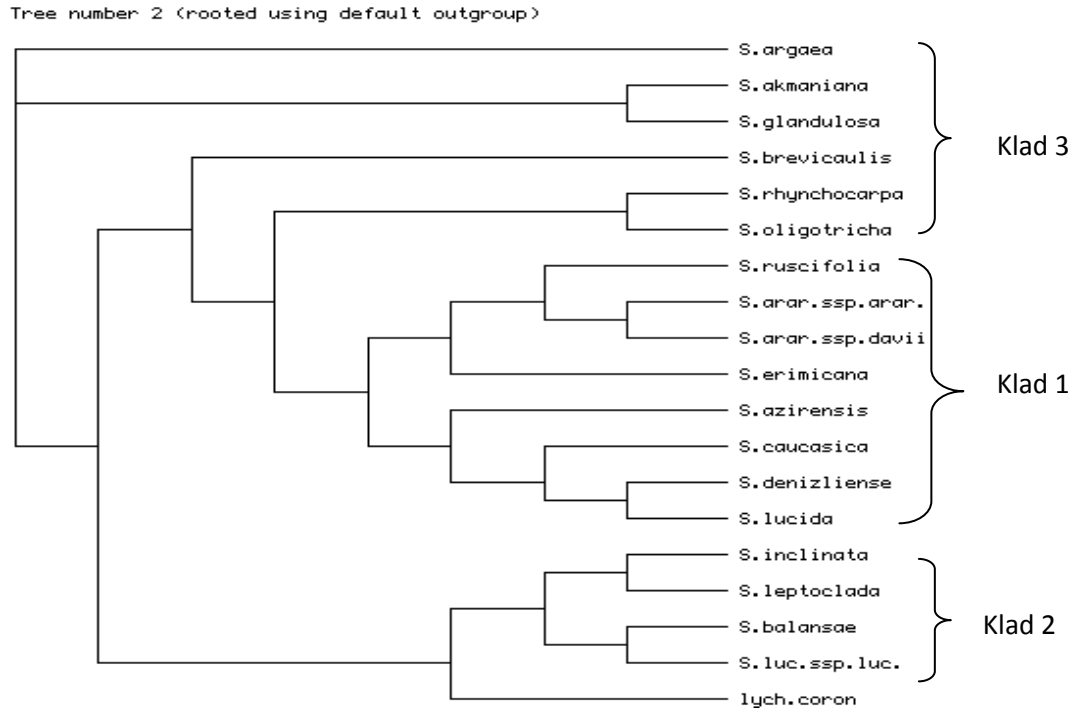
Son yıllarda nrDNA'nın ITS bölgelerine dayalı filogenetik analizler taksonomik verilerin ortaya çıkmasında kullanılmaktadır. Bu analizler sayesinde taksonomik olarak karmaşık olan birçok türün, cinsin veya çok sayıda takson ihtiva eden grupların filogenetiğinin yeniden inşasında kullanılmaktadır.

Filogeninin çok yaygın olarak kullanılmasına bağlı olarak bunların yeniden yapılandırılması için birçok metot geliştirilmiştir. Parsimoni en sık çalışılan ve

kullanılan filogenetik ağaçtır. Parsimonide en yüksek olan ağaç, en tutumlu olan yani genetik ilişkiyi en güvenilir biçimde yansıtan ağaçtır.

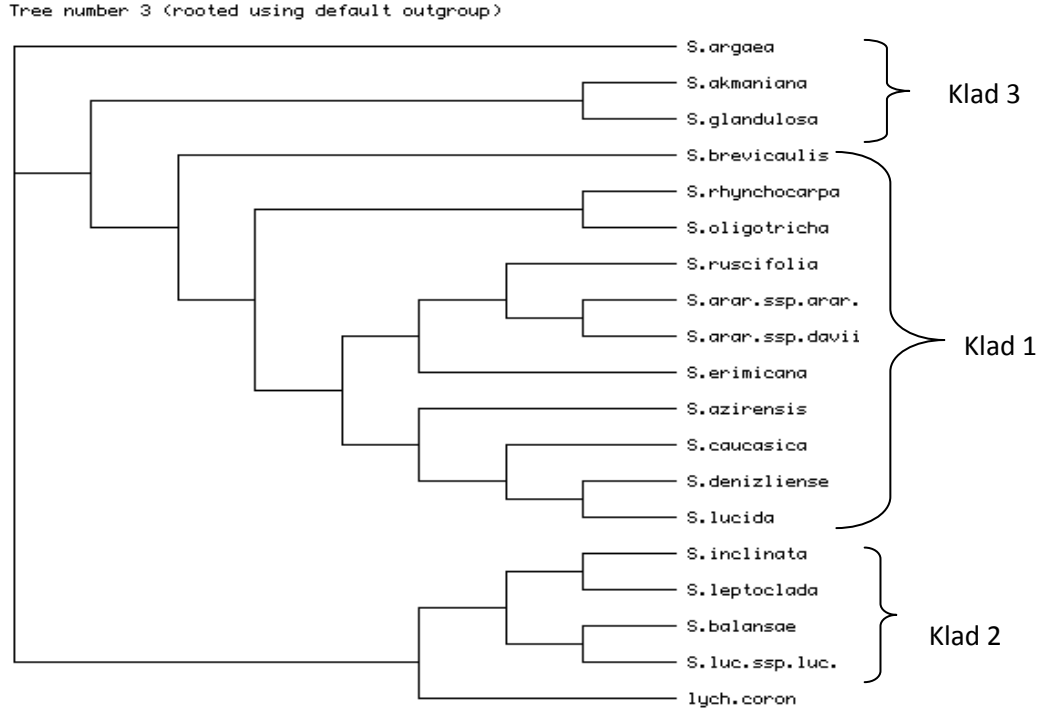
Karakter temelli yöntemlerden Maksimum Parsimoni kriteri kullanılarak Branch and Bound algoritması yapıldı. Yapılan parsimoni analizinde toplam 798 karakter incelenmiş ve bunlardan 282 karakter sabit(constant) karakterli, 133 karakter değişken çıkmıştır. Parsimonik bilgi içeren karakter sayısı ise 383 çıkmıştır. Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil 3.7'ye baktığımız zaman oluşturmuş olduğumuz filogenetik ağaçları görmekteyiz. Şekil 3.5 deki ağacı incelediğimiz zaman üç klad'dan oluştuğunu görmekteyiz. Buna göre *S. akmaniana* ve *S. glandulosa*'nın filogenetik olarak kardeş grup olduğunu görmekteyiz. *S. inclinata* ve *S. leptoclada*'nın kardeş grup olduğunu görmekteyiz. Yine aynen *S. balansae*'nin *S. lucida ssp. lucida* ile monofiletik grup oluşturduğu ve bu türlerin Şekil 3.5 de *S. inclinata* ve *S. leptoclada* ile klad oluşturduğu görülmektedir. *S. rhynchocarpa* ile *S. oligotricha*'nın kardeş grup olduğu, *S. araratica ssp. araratica* ve *S. araratica ssp. davisii*'nin bir kardeş grup oluşturdukları ve bu gruba *S. ruscifolia*'nın yakın akraba olduğunu Şekil 3.5 de görmekteyiz. *S. denizliense* ve *S. lucida*'nın kardeş takson olduğu ve bu gruba *S. caucasica*'nın akraba olduğu görülmektedir.

Çalışmamız *Silene* L. cinsine ait Brachypodeae ve Auriculatae seksiyonuna ait türler üzerinedir. Moleküler veriler ile morfolojik verilerin varlığı türler arasındaki akrabalık ilişkilerini güçlendirecektir. Şekil 3.5 Klad 2 olarak belirttiğimiz *S. leptoclada*, *S. inclinata* ve *S. balansae* moleküler olarakta aynı grupta seksiyon olarakta Brachypodeae seksiyonunda yer almaktadır.



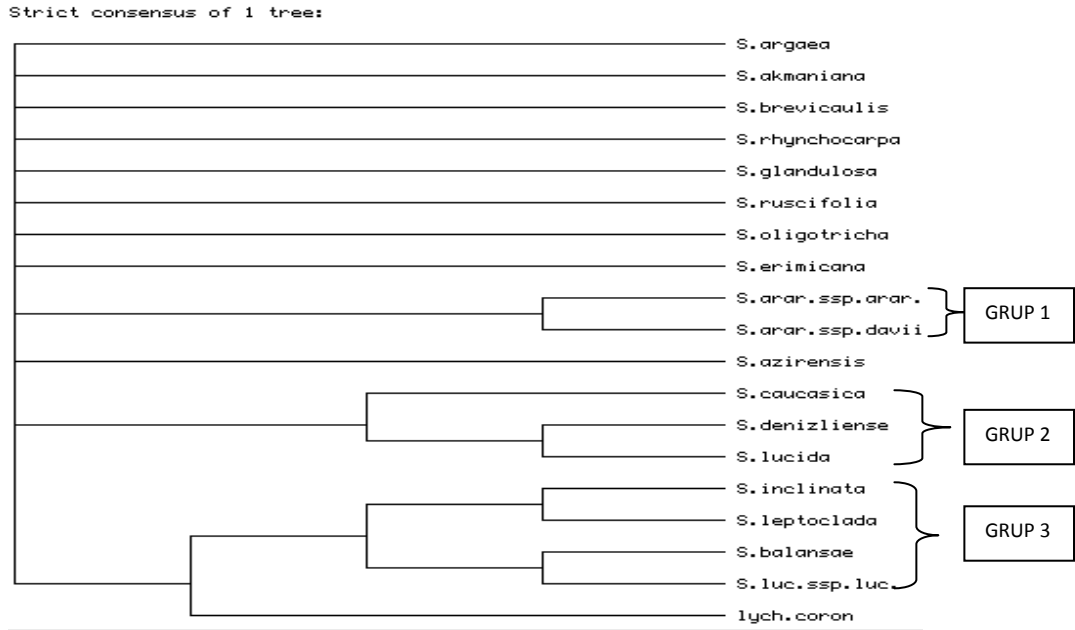
**Şekil 3.6** Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 2. Nolu ağaç.

Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 2. Nolu ağacı incelediğimiz zaman Şekil 3.5 deki ağaçtaki özellikleri destekleyici nitelikte olduğunu görmekteyiz. *S. inclinata*, *S. leptoclada*, *S. balansae*, *S. lucida ssp. lucida*'nın Şekil 3.5 deki gibi Şekil 3.6 da bir grup olduğu ve bu gruba dış grup olarak seçtiğimiz *Lychnis coronaria*'nın akraba olduğunu görmekteyiz. Ancak Şekil 3.5 deki dal ile Şekil 3.6 da ki bu grupların dallarına baktığımız zaman grup olarak aynı ama yer olarak farklılık görülmektedir. Şekil 3.6 daki filogenetik ağaçtaki akrabalık ilişkileri Şekil 3.5 deki parsimoni ağacını desteklediği açıkça görülmektedir. *S. denizliense* ile *S. lucida* 'nın kardeş grup olduğu ve bu gruba da *S. caucasica*'nın yakın akrabalığı her iki şekilde de görülmektedir. *S. araratica ssp. araratica* ve *S. araratica ssp. davisii*'nin kardeş takson olduğu ve bu taksonlara *S. ruscifolia*'nın yakın akraba olduğunu her iki şekilde de görmekteyiz. *S. akmaniana* ve *S. glandulosa*'nın monofiletik grup olduğu, *S. rhynchorcarpa* ile *S. oligotricha*'nın da monofiletik grup olduğu Şekil 3.6 görülmekte ve bunu parsimoni kriteri ile oluşturulan bir nolu ağaç desteklemektedir



**Şekil 3.7** Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 3. Nolu ağaç

Kes Bağla araştırma algoritması ile elde ettiğimiz şekil 3.7 parsimoni ağacına baktığımız zaman *S. inclinata*, *S. leptoclada*'nın *S. balansae* ve *S. lucida ssp lucida*'nın bir grup oluşturduğu bu gruba dış grup olarak seçtiğimiz *Lychnis coronori*'nin akraba olduğu görülmektedir. şekil 3.5 ve 3.6 daki parsimoni kriteri ile oluşturulan şekillere baktığımız zaman bunu desteklediği açıkça görülmektedir. *S. araratica ssp. araratica* ve *S. araratica ssp. davisii*'nin kardeş takson olduğu ve bu taksonlara *S. ruscifolia*'nın yakın akraba olduğunu şekil 3.7 de görmekteyiz. *S. denizliense* ile *S. lucida* 'nın kardeş grup olduğu ve bu gruba da *S. caucasica*'nın yakın akrabılığı şekil 3.7 de belirtilmiştir. *S. akmaniana* ve *S. glandulosa*'nın monofiletik grup olduğu, *S. rhynchorcarpa* ile *S. oligotricha*'nın da monofiletik grup olduğu Şekil 3.7 de gösterilmiştir. Kes Bağla algoritması ile oluşturulan parsimoni ağaçlarının her üç şekilde desteklediği bunlara moleküler veriler dahilinde daimi destek sağlamak için şekil 3.8 de strict consensus ağacı şekil 3.9 da UPGMA ağacı, şekil 3.10 da NJ ağacı ve Şekil 3.11 de bootstrap analizi oluşturulmuştur.

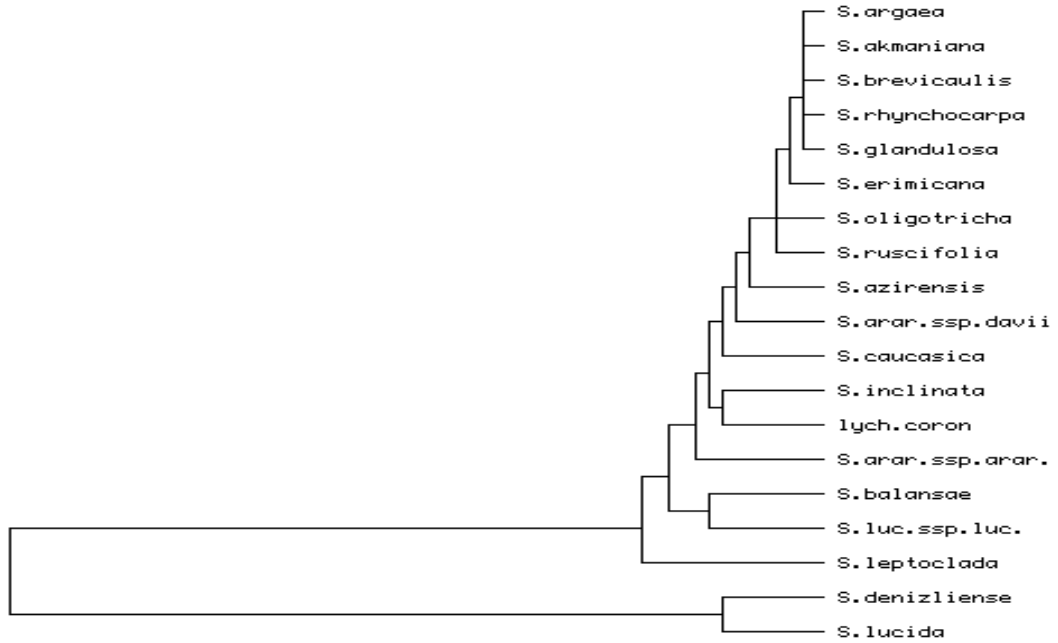


**Şekil 3.8** Kes Bağla Algoritması ve Maksimum Parsimoni Kriteri Kullanılarak Elde Edilen 45 Maksimum Parsimoni Ortak Uyumluluk Ağacı( Strict Consensus)

Şekil 3.8 deki Strict Consensus ağacına baktığımız zaman *S. inclinata* ile *S. leptoclada*'nin monofiletik grup olduğu bu ağaçta da görülmektedir. Şekil 3.5, 3.6 ve 3.6 daki ağaçlarda da bu türlerin kardeş olduğunu söylemiştik. Moleküler verilerin desteklenmesi için bu türlere ait morfolojik veriler baktığımız zaman bu türlerin braktelerin lanseolat olması, pistilin bileşik karpelli olması, gövde yaprakların linear ve lanseolat olması alt yaprakların tabanda roset ve tohumların reniform kahverengi olması morfolojik olarak yakınlığını desteklemektedir. Bu destek sonucu moleküler verilere ışık tutulmaktadır. *S. lucida ssp. lucida* ve *S. balansae* ile kardeş grup olduğu şekil 3.8 de gösterilmektedir. Bu türlerin moleküler destek olarak şekil 3.5, 3.6 ve 3.7 de parsimoni ağaçlarında görülmektedir. Morfolojik verilere baktığımız zaman alt yapraklar tabanda roset, gövde yaprakları lanseolat-linear, brakteler lanseolat, pistil bileşik karpelli ve tohumların reniform kahverengi olması gibi benzer morfolojik karakterler akrabalık ilişkisini desteklemektedir. *S. denizliense* ve *S. lucida*'nın şekil 3.8 de aynı grupta olduğu ve şekil 3.5, 3.6 ve 3.7 deki parsimoni kriteri oluşan ağaçlarla desteklendiği görülmektedir. Bu iki türün morfolojik verilerine baktığımız zaman gövde yapraklarının linear, alt yaprakların akut ve linear olması, braktelerin lanseolat olması, petallerin aurikulat, pistilin bileşik karpelli olması ve tohumların

reniform ve renginin kahverengi olması türlerin yakın akraba olduğunu moleküler destekler ile desteklemektedir. Ayrıca bu iki türe *S.caucasica*'nın yakın akraba olduğu filogenetik olarak görülmektedir. *S. caucasica*'nın morfolojik birkaç özelliğine baktığımız zaman braktelerin lanseolat olması, gövde yapraklarının linear ve lanseolat olması, pistilin bileşik karpelli tohum renginin kahverengi olması moleküler verileri destekler nitelikte olmaktadır. Şekil 3.8 de *S. araratica ssp. araratica* ve *S. araratica ssp. davisii*'nin kardeş takson olduğu görülmektedir.

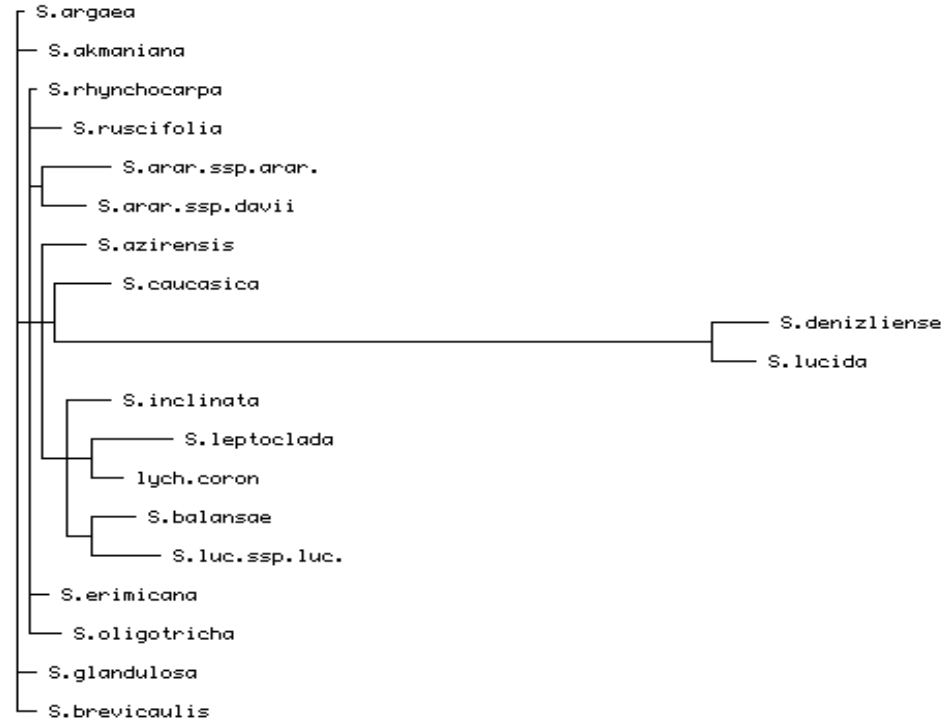
UPGMA tree:



Şekil 3.9UPGMA Ağacı

Genetik uzaklık metodu, dizi çiftleri arasındaki farkın derecesine ve uzaklığına dayanır. Uzaklık metodunda 2 algoritma kullanılır. Bunlardan birincisi küme temelli, ikincisi optimalite temelli algoritmalarıdır. Küme temelliler UPGMA ve NJ olmak üzere iki çeşidi vardır. Optimalite temelli algoritmalarda ise birçok ağaç topolojisini kıyaslar ve ağaçlar arasında en uygun düşünülene seçer [103].

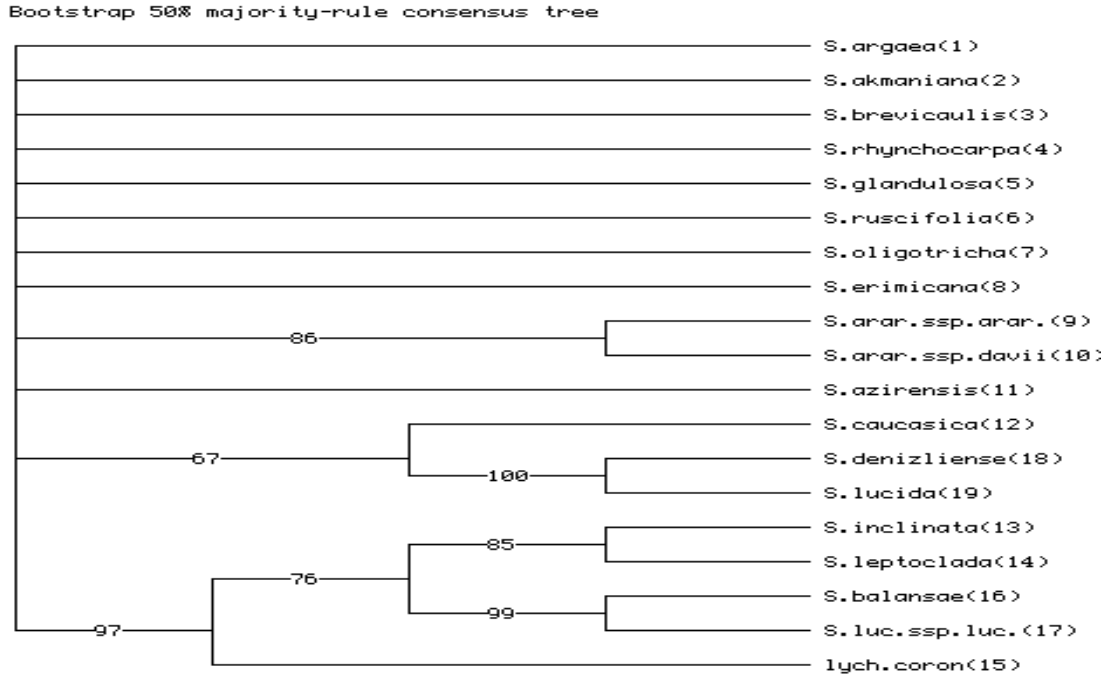
Neighbor-joining tree:



Şekil 3.10 Neighbour Joining (NJ) Ağacı

Maksimum Parsimoni yöntemine ek olarak mesafe temelli yöntemlerden UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) ve NJ (neighbor joining) analizleri yapılmıştır. NJ Analizi sonucu oluşan filogenetik ağaç Şekil 3.10'da, UPGMA Analizi sonucu oluşan filogenetik ağaç Şekil 3.9'da gösterildiği gibidir.

Şekil 3.10'da NJ analizi sonucunda oluşan filogenetik ağaçtaki dal uzunluklarının birbirinden farklı olduğu gözlemlenmektedir. Filogramdaki bu dal uzunluklarının farklı olması türlerin hangisinin daha önce veya sonra evrimleştiğini gösterir. Filogenetik ağaçtaki uzun olan dallar günümüze en yakın olan atayı göstermektedir, kısa olan dallar ise en eski (ilkel) atayı göstermektedir. Şekil 3.9'daki UPGMA analizinde ise dal uzunlukları eşit olarak hesaplanmaktadır ve bu ağaç bize ataların ilkelliği ile ilgili herhangi bir bilgi vermemektedir.



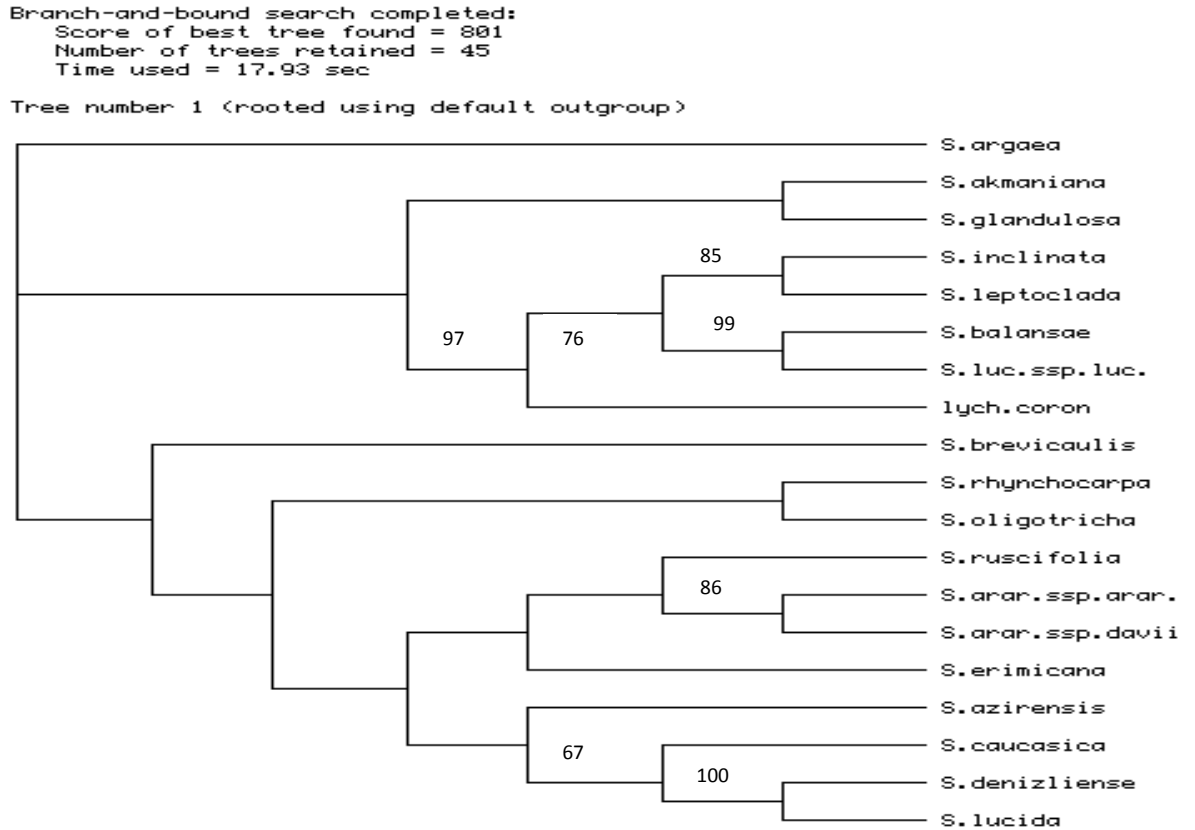
Şekil 3.11 Bootstrap Analizi Sonucu Oluşan Ağaç

Bootstrap araştırması elde edilen ağaçların dallarının parsimoni kriterini kullanarak istatistiksel yönden en güvenilir olan dalları belirlemede kullanılır [104]. Burada veri setinden bazı replikasyonlar üretilerek her bir dalın yüzdellik olarak ne oranda desteklendiğini gösterir. Bootstrap değeri % 0 ile % 100 arasında değişir. Kress ve arkadaşlarının karakterize ettiği bootstrap destek değerlerine göre, > % 85 çok güçlü, % 70-85 arası güçlü, %50-70 arası zayıf ve < % 50 çok zayıf şekilde tanımlanmıştır [105]. Bootstrap desteğinin % 70 ya da daha büyük olması genellikle doğru filogeninin tanımlanması ile ilişkilendirilir. Eğer, belli bir dal için bootstrap desteği % 50'nin altında ise; araştırmacı ağacın bu kısmındaki dallanma modelini belirleyemediği veya aradaki ilişkinin tam netleştirilemediği sonucuna varacak ve bunun sonucunda yayınladığı ağaçta, bu dalı tek düğümden çok çatallı olarak verecektir.

Şekil 3.11 deki bootstrap analizine göre *S. balansae* ve *S. lucida ssp. lucida*'nın monofiletik grup olduğu ve bunun %99 desteklendiği görülmektedir. Hem morfolojik hemde moleküler veriler ile bu iki türün bir grup olduğu görülmektedir. *S. inclinata* ve *S. leptoclada*'nın bir grup olduğu ve bu grubun %85 desteklendiği şekil 3.11 de



görülmektedir. Buna destek olarak parsimoni kriteri ile oluşturulan şekil 3.5, 3.6 ve 3.7 deki ağaçlarda da *S.leptoclada* ve *S. inclinata*'nın filogenetik akrabalık olduğunu göstermektedir. *S.leptoclada* ve *S. inclinata*'nın oluşturduğu grup ile *S. balansae* ve *S. lucida ssp. lucida*'nın oluşturduğu grubun birbiri ile akraba olduğu ve bunun %76 desteklendiği şekil 3.11 de gösterilmektedir. Ayrıca dış grup olarak seçtiğimiz *Lychnis coronaria*'nın *S. leptoclada*, *S. inclinata*, *S.balansae* ve *S. lucida ssp lucida* ile oluşturulan gruptan ayrıldığı şekil 3.11 de %97 oranında desteklendiği görülmektedir. *S. denizliense* ve *S. lucida*'nın şekil 3.11 de %100 desteklediği ve bu türlerin filogenetik akraba olduğu hem moleküler hemde morfolojik veriler ile desteklenmektedir. Bu gruba *S. caucasica*'nın yakın akraba olduğu %67 oranında desteklenmiştir. Şekil 3.11 de *S. araratica ssp. araratica* ile *S. araratica ssp. davisii*'nin kardeş takson olduğu %86 olduğu görülmektedir.



**Şekil 3.12** Üzerine Bootstrap Değeri İşlenmiş Kes Bağla (Branch and Bound) Araştırma Algoritmasıyla Elde Edilen 45 Parsimoni Ağacından 1. Nolu ağaç

Elde edilen 45 parsimoni ağacından 1 nolu ağacın üzerine bootstrap değerleri şekil 3.12 de işlenmiştir. *S. inclinata*, *S. leptoclada*, *S. balansae* ve *S. luc. ssp. luc.*'nin bir grup oluşturduğu, grubun yüzde 76 destek aldığı ve dış grup olarak seçtiğimiz *Lychnis coronaria*'nın bu gruptan ayrıldığı görülmektedir. Şekil 3.12 de *S. araratica ssp.araratica* ile *S. araratica ssp. lucida*'nın kardeş takson olduğu yüzde 86 desteklendiği Şekil 3.11 de bootstrap analizinde de görülmektedir. Ancak *S.araratica ssp.araratica* ile *S. araratica ssp. lucida*şekil 3.12 de *S. ruscifolia* ile akraba olduğu görülmektedir. *S. denizliense* ve *S. lucida*'nın monofiletik grup olduğu yüzde 100 destek aldığı ve bu gruba *S. caucasica*'nın akraba olduğu yüzde 67 desteklendiği görülmektedir.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Davis, P.H. (ed.), Turkey: Present State of Floristic Knowledge. La Flore du Bassin Med Ecsai de Systemetique Synthetique No: **235**, (1975) 93-113.
- [2] Boissier, E., Flora Orientalis. 1-6, Geneva. (1875) 1867-1888.
- [3] Çırpıcı, A., Türkiye'nin Flora ve Vejetasyonu Üzerine Araştırmalar. Doğa Türk Botanik Dergisi, **11/ 2**,(1978) 217-232.
- [4] Davis, P.H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Island, (Supplement),Edinburgh Univ.Press. Vol. **10**, (1988).
- [5] Davis, P.H. (ed.),. Flora of Turkey and the East Aegean Island. Edinburgh Univ.Press. Vol. **1-9**, (1965-1985).
- [6] Davis, P.H., Hedge, I.C., The Flora of Turkey: Past, Present and Future. Candollea,Edinburgh **30**, (1975) 331-351,.
- [7] Davis, P.H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Island. Edinburgh Univ. Press.London Vol. **2**, (1967).
- [8] Ekici, M., Ekim, T., Revision of Section *Hololeuche* Bunge of the Genus *Astragalus* L. (Leguminosae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, Vol **28/3**, (2004) 307-347.
- [9] S,Fior, P.O. Karis, G.Casazza, L.Minuto ve F. Sala, "Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae (Caryophyllales) inferred from chloroplast matK and nuclear rDNA its sequences" *American Journal of Botany* **93,3**, (2006) 399-411.

- [10] Davis, P.H. and Cullen, J.: The identification of flowering plant families, London, (1965).
- [11] Polunin, O.: Flowers of Europe, London, (1969).
- [12] Demiriz, H.: Tohumlu Bitkiler Sistematığı, İstanbul, (1966).
- [13] Baytop, A.: Farmosotik Botanik, İstanbul, (1983).
- [14] Davis, P.H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Island, (Supplement),Edinburgh Univ.Press. Vol. 2, (1988) 215-220s.
- [15] Kılıç, S., Türkiye'nin *Silene* L. (Caryophyllaceae) cinsi Brachypodeae ve Auriculatae Seksiyonları Üzerinde Biyosistemantik Çalışmalar. Ph. D. SEMRA KILIÇ , Doktora Tezi. (2007).
- [16] Yıldız, K.,Morphological and Palynological Investigation on *Silene gigantea* L. var. *gigantea* and *Silene behen* L. (Caryophyllaceae) Distributed in Western Anatolia and Northern Cyprus. *Turkish Journal of Botany* **30**, (2006) 105-119.
- [17] Ertürk, Ö., Katı, H., Yaylı, N., Demirbağ, Z., Antimicrobial Properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. Plant Extracts *Turkish Journal of Biology* **30**, (2006) 17-21.
- [18] Jafari, A., Mahmood, Z., Fathi, Z., A Biosystematical Investigation on *Silene* L. Species in North-East of Iran *Asian Journal of Plant Sciences* **7/4**, (2008) 394-398
- [19] Sheidai, M., Gholipour, A., Noormohammadi, Z., Species relationship in the genus *Silene* L. Section Auriculatae (Caryophyllaceae) based on morphology and RAPD analyses. *Acta Biologica Szegediensis* Volume **54/1**, (2010) 25-31.

- [20] Özçelik, H., Kılıç, S., Comparative Morphological and Anatomical Studies on the Genus *Silene* L. Sect. *Auriculatae* Boiss. (Caryophyllaceae) Species in Turkey. *Journal of Plant Environmental Sciences* **1**, (2009) 5-15.
- [21] Bağcı, Y., 2008. New Species of *Silene* L. (Caryophyllaceae) from South Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany* **32**, (2008) 11-15.
- [22] Hamzaoğlu, E., Koç, M., Budak, Ü., 2011 new species of *Silene* (Caryophyllaceae) from East Anatolia (Turkey): *Silene gevasica* Hamzaoğlu sp. Nova. *Turkish Journal of Botany* **35**, (2011) 67-70.
- [23] Bremer, K., "The Limits of Amino Acid Sequence Data in Angiosperm Phylogenetic Reconstruction", *Evolution*, **42/4**, (1988) 795.
- [24] Rossi, W., Corrias, B., Arduino, P., Cianchi, R., Bulluni, L., "Gene variation and gene flow in *Orchis morio* (Orchidaceae) from Italy", *Plant Systematics and Evolution*, **79/1-2**, (1992) 43.
- [25] Schlegel, N., Steinbrück, G., Hahn, K., Rötter, B., "Interspecific Relationship of Ten European Orchid Species as Revealed by Enzyme Electrophoresis", *Plant Systematics and Evolution*, **163**, (1989) 107.
- [26] Aceto, S., Caputo, P., Cozzolino, S., Gaudio, L., Moretti, A., "Phylogeny and Evolution of *Orchis* and Allied Genera Based on Its DNA Variation: Morphological Gaps and Molecular Continuity", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **13/1**, (1999) 67.
- [27] Bellarosa, R., Simeone, M.C., Papini, A., Schirone, B., "Utility of ITS Sequence Data for Phylogenetic Reconstruction of Italian *Quercus* Spp.", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **34/2**, (2005) 355.
- [28] Froslev, T.G., Matheny, P.B., Hibbett, D.S., "Lower Level Relationships in the Mushroom Genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales): A Comparison of

- Rpb1, Rpb2, and Its Phylogenies", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **37/2**, (2005) 602.
- [29] Gernandt, D.S., Liston, A., and Pinero, D., "Variation in the Nrdna Its of Pinus Subsection Cembroides: Implications for Molecular Systematic Studies of Pine Species Complexes", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **21/3**, (2001) 449.
- [30] Liu, J.-Q., Gao, T.-G., Chen, Z.-D., and Lu, A.-M., "Molecular Phylogeny and Biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau Endemic Nannoglottis (Asteraceae)", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **23/3**, (2002) 307.
- [31] Graham, S.W., Olmstead, R.G., "Systematics - Utility of 17 Chloroplast Genes for Inferring the Phylogeny of the Basal Angiosperms", *American journal of botany*. **87/11**, (2000) 1712.
- [32] Lee, C., Wen, J., "Phylogeny of Panax Using Chloroplast Trnc-Trnd Intergenic Region and the Utility of Trnc-Trnd in Interspecific Studies of Plants", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31/3**, (2004) 894.
- [33] 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. Missouri Bot. Garden*, **84**, (1997) 381.
- [34] Brauchler, C., Meimberg, H., Abele, T. Heubl, G., "Polyphyly of the Genus *Micromeria* (Lamiaceae)-Evidence from Cpdna Sequence Data", *Taxon*, **54/3**, (2005) 639.
- [35] Markova, S., Dufresne, F., Rees, D.J., Cerny, M., Kotlik, P., "Cryptic Intercontinental Colonization in Water Fleas *Daphnia Pulicaria* Inferred from

- Phylogenetic Analysis of Mitochondrial DNA Variation", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44/1**, (2007) 42.
- [36] Garda, A.A., Cannatella, D.C., "Phylogeny and Biogeography of Paradoxical Frogs (*Anura*, *Hylidae*, *Pseudae*) Inferred from 12s and 16s Mitochondrial DNA", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44/1**, (2007) 104.
- [37] Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthou, G., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A., Mylonas, M., "Mitochondrial Phylogeography of *Rana* (Pelophylax) Populations in the Eastern Mediterranean Region", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44/1**, (2007) 115.
- [38] Loo, A.H.B., Dransfield, J., Chase, M.W., Baker, W.J., "Low-Copy Nuclear DNA, Phylogeny and the Evolution of Dichogamy in the Betel Nut Palms and Their Relatives (*Arecinae*; *Arecaceae*)", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39/3**, (2006) 598.
- [39] Oxelman, B., Yoshikawa, N., McConaughy, B.L., Luo, J., Denton, A.L., Hall, B.D., "Rpb2 Gene Phylogeny in Flowering Plants, with Particular Emphasis on Asterids", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **32/2**, (2004) 462.
- [40] Britten, R.J., "Rates of DNA Sequence Evolution Differ Between Taxonomic Groups", *Science*, **231**, (1986) 1393-1398.
- [41] Stuber, W.C., "Biochemical and Molecular Markers in Plant Breeding", *Plant Breeding News*, **9**, (1992) 36-31.
- [42] Hatzopoulos, P., et al., "Breeding, Molecular Markers and Molecular Biology of the Olive Tree" *European Journal Of Lipid Science Technology*, **104**, (2002) 574-586.
- [43] Reiter, S.R., Young, M., Scolnik, P.A., "Genetic Linkage of the Arabidopsis Genome: Methods for Mapping with Recombinant Inbreds and Rapsds.

Methods in Arabidopsis Research", *World Scientific Publishing Singapore*: (1993).

- [44] Crawford, D.J., Ornduff, R., "Enzyme Electrophoresis and Evolutionary Relationships among Three Species of *Lasthenia* (Astraceae:Heliantheae)", *Am J Bot*, **76/2**, (1989) 289-296.
- [45] Lehninger, A., Nelson, D.L., Cox, M., "Principles of Biochemistry", New York Worth Publishers (1993).
- [46] Matus, M., Hucl, P., "Isosyme Variation within and among Accession of Annual *Phalaris* Species in North American Germplasm Collections", *Crop Sci*, **39/4**, (1999) 1222-1228.
- [47] Nelson, A.D., Elisens, W., "Polyploid Evolution and Biogeography in *Chelone* (*Scrophulariaceae*): Morphological and Isozyme Evidence", *Am J Bot*, **86/10**, (1999), 1487-1501.
- [48] Buth, D.G., "The Application of Electrophoretic Data in Systematic Studies", *Annu Rev Ecol Syst*, **15**, (1984) 501-22.
- [49] Carey, K., Ganders, F.R., "Patterns of Isoenzyme Variation in *Plectritis* (*Valerianaceae*)", *Syst Bot*, **12/1**, (1987) 125-132.
- [50] Chase, M.W., Olmstead, R.G., "Isozyme Number in Subtribe *Oncidiinae*(*Orchidaceae*): and Evaluation of Polyploidy", *Am J Bot*, **75/7**, (1988) 1080-1085.
- [51] Dje, Y., Forcioli, D., Ater, M., Lefebvre, C., Vekemans, X., "Assessing Population Genetic Structure of *Sorghum* Land Races from North-Western Morocco Using Allozyme and Microsatellite Markers", *Theor Appl Genet*, **99**, (1999) 157-163.



- [52] Furnier, G.R., Adams, W.T., "Geographic Patterns of Allozyme Variation in Jeffrey Pine", *Am J Bot*, **73/7**, (1986) 1009-1015.
- [53] Max, K.N., Mouchaty, S.K., Schwaegerle, K.E., "Allozyme and Morphological Variation in Two Supspecies of *Dryas Octopetala* (Rosaceae) in Alaska", *Am J Bot*, **86/11**, (1999) 1637-1644.
- [54] Gottlieb, L.D., Warwick, S.I., Ford, V.S., "Morphological and Electrophoretic Divergence between *Layia discoidea* and *L. glandulosa*", *Syst Bot*, **10/4**, (1985) 484-495.
- [55] Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., "Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms", *Theor Appl Genet.*, **98**, (1999) 411.
- [56] 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.
- [57] Dubreuil, P., Charcosset, A., "Relationship among Maize Inbred Lines and Populations from European and North-American Origins as Estimated Using RFLP Markers", *Theor Appl Genet*, **99**, (1999) 473-481.
- [58] Kang, B.C., Nahm, S.H., Huh, J.H., Yoo, H.S., Yu, J.W., Lee, M.H., Kim, B.D., "An Interspecific (*Capsicum annum* X C.Chinese) F2 Linkage Map in Pepper Using RFLP and AFLP Markers", *Theor Appl Genet*, **102**, (2001) 531-539.
- [59] Kochert, G., "Restriction Fragment Length Polymorphism in Plants and Its Implications", *Subcellularn Biochem*, **17**, (1997) 167-190.

- [60] Liu, C.J., Musial, J.M., Thomas, B.D., "Genetic Relationships among *Stylosanthes* Species Revealed by RFLP and STS Analyses", *Theor Appl Genet*, **99**, (1999) 1179-1186.
- [61] Re' Mi A. Wattier, A.L.D., Barbara, A. W., Maggs, C.A., "cpDNA-Rflp in *Ceramium* (Rhodophyta): Intraspecific Polymorphism and Species-Level Phylogeny", *American Journal of Botany*, **88/7**, (2001) 1209.
- [62] Motomi Ito, T.Y., King, R. M., Watanabe K., Sanae Oshita, J.Y., Crawford, D.J., "Molecular Phylogeny of Eupatorieae (Asteraceae) Estimated from Cpdna Rflp and Its Implication for the Polyploid Origin Hypothesis of the Tribe", *Journal of Plant Research*, **113**, (2000) 91.
- [63] 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.
- [64] Yıldırım, A., Kandemir, N., Genetik Markörler ve Analiz Metodları, Konya. Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları, Bölüm **23**(2001) 112-159.
- [65] Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., "AFLP: a new technique for DNA fingerprinting", *Nucleic Acid Research*, **23**, (1995) 4407-4417.
- [66] <http://138.23.152.128/protocols/SSCP%20protocol.pdf>, (25.06.2011).
- [67] E. Okogbenin, J.M., M. Fregene, "Development of Ssr Markers for the Cassava Molecular Genetic Map", *Euphytica*, **147**, (2006) 433.
- [68] Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Cregan, P. B., "Length Polymorphisms of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean", *Genetics*, **134**, (1992) 1131-1139.

- [69] Morgante, M.a.O., A.M., "PCR-Amplified Microsatellites as Markers in Plant Genetics", *Plant J.*, **3/1**, (1993) 175-182 .
- [70] Rallo, P., Dorado, G., Martin, A., "Development of Simple Sequence Repeats SSRs) in Olive Tree (*Olea europaea* L.)", *Theor Appl Genet*, **101**, (2000) 984-989.
- [71] Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., "DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful as Genetic Markers", *Nucleic Acids Research*, **18**, (1990) 6531.
- [72] Babalola, O.O., "Molecular Techniques: An Overview of Methods for the Detection of Bacteria", *African Journal of Biotechnology*, **2/12**, (2003) 710.
- [73] Basıbüyük, H.H., Bardakçı, F., Belshaw, R., Quicke, D.L.J., "Phylogenetic Systematics, "A Practical Guide to Theory and Practise". Önder Matbaa Sivas (2000).
- [74] Deregon, J.M, Landry, B. S. RAPD and other PCR-based Analyses of Plant Genomes Using DNA Extracted from Small Leaf Disks *Research* **1**, (1992) 175-180.
- [75] Bailey, E., Lear, T.L. Comparison of Throughbred and Arabian horses using RAPD markers. *Animal Genetics* **25**, (1994) 105-108.
- [76] Tingey, S.V., Del Tufa, J.P., "Genetic Analyses with Random Amplified Polymorphic DNA Markers", *Plant Physiol*, **101**, (1993) 349-352.
- [77] Rafalski, A., Tingey, S.V., "Genetics Diagnostics in Plant Breeding: RAPDs Microsatellites and Machines", *Trend Genet*, **93/8**, (1993) 275-280.

- [78] Maxam A., G.W., *A new method of sequencing DNA*. Proceedings of the National Academy of Sciences, **74**, (1977) 560-564.
- [79] Sanger, F., N.S., Coulson, A.R., *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. Proceedings of the National Academy of Sciences, **74**, (1977) 5463-5467.
- [80] Yıldırım A., Bardakçı B., Karataş M., Tanyolaç B., *Moleküler Biyoloji Nobel Yayın ve Dağıtım ANKARA* (2007) 155-163s.
- [81] Dilsiz N., *Moleküler Biyoloji Palme Yayıncılık ANKARA*. (2004) 17-18s.
- [82] Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter J. M., Wolciechowski, M. F., Campell, C.S. Donoghue, M. J., *The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, (1995) 250-272.
- [83] 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.
- [84] Dayle, E., Saar, N.O.P., Sørensen, P.D., Duvall, M.R., "Angiosperm DNA Contamination by Endophytic Fungi: Detection and Methods of Avoidance", *Plant Molecular Biology Reporter*, **19**, (2001) 249.
- [85] Klug, W.S. and Cummings, R. M. *Genetik*. Öner, C. (eds.), Palme Yayıncılık, Ankara,. (2003) 816 s.
- [86] Saiki, R. K., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnheim. *Enzymatic amplification of B-globulin genomic sequences and*

- restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, **230**, (1985) 1350-1354.
- [87] Schochetman, G., Jones KW: Polymerase Chain Reaction. *J Inf Dis.* **158**, (1988) 1154-1157.
- [88] Watson, J. D., M. Gilman, J. Witkowski and M. Zoller. The polymerase chain reaction In: Recombinant DNA. Second Edition. New York. (1992) 79-98.
- [89] Innis, M.A. and D.H. Gelfand. Optimization of PCRs In Innis, M.A, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.and White T.J (eds.). PCR protocols A guide to methods and applications.Academic Press. (1990) 3-12 pp.
- [90] Erlich, H A, D. H. Gelfand and J. J. Sninsky. Recent advances in polymerase chain reaction. *Science*, **252**, (1991) 1643-1650.
- [91] Anonymous,EncyclopædiaBritannica,Inc.(<http://concise.britannica.com/ebc/art-18071/The-three-step-process-of-the-polymerase-chain-reaction>), (29.06. 2011).
- [92] Sorenson, M.D. Avian mtDNA primers Boston University. (2003).
- [93] Sato ,S.; Nakamura, Y.; Kaneko, T.; Asamizu, E.; Tabata, S.: “Complete structure ofthe chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*.” *DNA Research* **6**, (1999)283-90.
- [94] Griffin, H. G., Griffin, Griffin, A. M.: DNA sequencing. App. Biochem. Biotech. **38**, (1993) 147-159.
- [95] Saitou, N., Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, (1987) 406- 425.

- [96] Freeman, S. and Herron, J. C. Evrimsel Analiz. Çıplak, B., Başibüyük, H. H., Karaytuğ, S., Gündüz, İ. (eds), Palme Yayıncılık, Ankara, **28-29**, (1999) 438-449,708 s.
- [97] Felsenstein, J.. Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. *Molecular Evolution*. **26**, (1987) 123-31.
- [98] Mount, DW. Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York,. Chapter 3. Alignment of pairs of sequences; (2001) 52-137.
- [99] Kimura, M. A. simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**, (1980) 111-120.
- [100] Wakely, J. The excess of transitions among nucleotide substitutions: New methods of estimating transition bias underscore its significance. *Trends in Ecology and Evolution* **11**, (1996) 158-163.
- [101] Sneath, P. H. A., Sokal, R. R. Numerical Taxonomy: The Principals and Practice of Numerical Classification. San Francisco: Freeman. (1973).
- [102] Saitou N. and 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.
- [103] [http://conferences.computer.org/Bioinformatics/CSB2005/PDF3/14\\_nakhlehl\\_Parsimony .pdf](http://conferences.computer.org/Bioinformatics/CSB2005/PDF3/14_nakhlehl_Parsimony.pdf). (01.06.2011)
- [104] Felsenstein, J., "Confidence Limits on Phylogenies: an Approach using the Bootstrap", *Evolution*, **39**, (1985) 783-791.

- [105] Kress, W.J., et. al., "The Molecular Phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A Complex and Polyphyletic Genus of Gingers", *American Journal of Botany*, **92/1**, (2005) 167-178.

## 6. EKLER

### >*S. glandulosa* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası

GAAGGAGAAGTCTAAAGGTTTCCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCAT  
TGTCGAAACCTGCCAGCAGAGCGACCCGTGAACACGTTCAACCTCGTG  
GGGACGGGGCGTTGCTCGGTGCCTCGTGCGCCTGCTCGCCCCCTCCA  
GGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGGGCTGTTTCCCGGCCAAACAACGAAC  
CCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAATATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCG  
CTGCCCCGTTAGCCGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACG  
ACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGA  
AATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTT  
GAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGG  
CGTCACGCATCGCGTCTCCCCATACCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAG  
GATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCC  
CGGCATCGGTATGCCGCGGCGATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAG  
CAAGCAACCCGTCGCGCGTGCCGTGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTT  
GGCGTTGCCTAACGGCAACCAAACCGTGCGACCCCCAGTCAGGCGGGGC  
TACCCTGAA

### >*S. ruscifolia* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası

GACCTGCGAGGATTGTCGAAACCTGCCAGCAGAGCGACCGTGAACACG  
TTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTGCTCGGTGCCTCGTGCGCCTGCTCG  
CCCCCTCCCAGGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGGGCTGTTTCCCGGCCA  
ACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAATATAAACTTAATGTGT  
GTGCTCTCCCGCTGCCCGTTAGCCGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGTTCT  
TAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGA  
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAA



CCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCTCCGGCTGAGGGCA  
CGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTTCTCCCCATAACCACCTCGGTGG  
AGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTCGCGGCTGGCCTAA  
AATTGGAGCCCCCGGCATCGGTATGCCGCGGCGATAGGTGGTGAACAAG  
GCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGTGCCGTGCCAGCGTGGGCT  
CGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAACGGCAACCAAACCGTGCGACCCCA  
GGTCAGCGGCTACCCGTATTAA

**>*S.luc ssp.lucida* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

GTTTCGGTAGGTGAACCTGGCGGAGGATCATTGTCGAAACCTGCCAGCA  
GAGCGACCCGTGAACACGTTCAACCTCGTGGGTGCTGGGGCGTTGCTCGG  
TGCTCGTGTGCCAGCTCGCCCCTCTCCAGGCCGGGGAGCTCCCCACCC  
GTGGGCTGTTCCCCCGGCTAAATAACGAACCCCGGCGGCGTAAATGCGTC  
AAGGAATATAAACTTCTATGTGTGTGCTTCTCCTCTCGGCCGGTTAGCCG  
GGTGTGGAGTGGCGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGG  
ATATTCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG  
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGC  
GCCCCAAGCTTCTGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCTCGGGTC  
TTCCCCAAATTCCACCCTTGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCG  
GCTCCCCGGTTCGCGGCTGGCCTAAATTGGAGCCCTCGGCTCGGGATGCC  
GCGGCGATGGTGGGAACAAGGCCTTGGCCGAGCCACAACCCGTCGCGTG  
CCGTCCCAGTTGGGCTTGCAGGACCCTTTGGTGTCTCAAGGCAACCAAAC  
CGTTGCGACCCCAGGTCACGGCCGGGC

**>*S.irimicana* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

AGTGACCTGCGGAGGATCATTGTCGAAACCTGCCAGCAGAGCGACCCGT  
GAACACGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGCCTCGTGCG  
CCTGCTCGCCCCCTCCAGGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGGGCTGTTTC  
CCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGGTAAGCGTCAAGGAATATAAACT  
TAATGTGTGCGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAGCCGGGCGTTGGAGCTGTGC

CATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCA  
TCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATC  
CCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCTCCGGCT  
GAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCAAACCCACC  
TCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTCGCGGCT  
GGCCTAAAATTGGAGCCCCCGGCATCGGTATGCCGCGGCGATAGGTGGT  
GAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGTGCCGTGCCAAC  
GTGGGCTCGGAGGACCCTTGGCGTTGCCTAACGGCAACCAAAAAGCCCC  
GGGGGGG

**>*S.denizliense* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TTAAATTCGCGGGGTAGCCGCCTGACCTGGGGTCGCAAACCTGTTTTGGTT  
GCCCTGAAGGCAACGACAAAGGGTCCTGCGAGCCCACATTGGCACGGGA  
TGCGCGACGGGTTGCTTGCTTGGCCGAGGCCTTGTTACACCTATCGCC  
GCGGCATACCGATGCCAAGGGCTCCAATTTTAGGCCAGCCGCGACCGGT  
GAGTCGCGGGAAACCATCCTCCTTCCCCTCCACCAAGGGTGGATTTTGGG  
GGAGATGCGATGCGTGACGCCAGGCAGACGTGCCCTCAGCCGGAGGCT  
TCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAAT  
TCACACCAAGTATCGCATTTGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGA  
GATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTTATTGTTAAGACATGACACCACTCAA  
CGCCCGGCTAACCGGGCGATAGGAGAGCGCACACATAATGTTTATATTCC  
TTGACGCATTTACGCGCCGGGGTTCGTTGGTTAGCCGGGGAAACAGCCCA  
CAAGTGAGTGCTCCCCGGCCTGGGAGAGGGGCGAGCAGGCACACGAGGC  
ACCGAGCAATGCCCCAGCACCCACGAGGTTGAACGTGTTACGGGTTCGC  
TCTGCTGGGCGAGTTTCGACAATGATCCTTCCGCGAGGTTACCTACGAAA  
CCCGTTGACTTCTCCTTC

**>*S. caucasica* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

CGGAGGATGGAAGGAATTCGTAACCTGGCTCATAACCCGGGAGGACG  
TTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGCCTCGTGCGCCTGCTC

GCCCCCTCCCAGGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGGGCTGTTTCCCCGGCC  
AAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAATATAAACTTAATGTG  
TGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAGCCGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGTCT  
TAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGA  
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAA  
CCATCGAGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCTCCGGCTGAGGGCA  
CGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCAAACCCACCTCGGTGG  
AGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTCGCGGCTGGCCTAA  
AATTGGAGCCCCCGGCATCGGATGCCGCGGCGATAGGTGGTGAACAAGG  
CCTCGGCCAAGCAAGCAACCTGGGGGGCCAGGTGGAGGAGGAGCGAAC  
AGCAACATGCGGAG

**>*S. leptoclada* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TGGAAGGAGAAGTCGTAACAATTTTCGTAGGGAGGAAGGTATTGTCGAAA  
CCTGCCCAAGCGACCCGGACATGTTCAACCTCATGGGTGCTGGGGCGTTG  
CTCGGTGCCTCGTGTGCCTGCCCGCCCCTCTCCCAGGCCGAGGTAGCGCC  
CACTTGTGGGCTCTTCCCCGGCTAACCAACGAACCCCGGCGCGTAAATGC  
GTCAAGGAATATAAACTTTATGTGTGTGCTCTCCTATCGCCCGTTAGCC  
GGGCGTTGGAGTGGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACG  
GATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG  
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTTGAACGCAAGTGC  
GCCCCGAAGCTTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCG  
TCTCCCCATATTCCACCTTGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCG  
ACTCACCGGTTGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCACGGCATCGGGATG  
CCGCGGCGATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTC  
GGCATGCCGTGCCAATGGGGCCGAAACCTTGGGAAGGCAACAACCTAAG  
GTCAGGCGGGGCTACCCGCTGAATTT

**>*S. incliniata* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

GGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCCAGC  
AGAGCGACCCGTGAACGTGTTCAACCTCATGGGTGCTGGGGCGTTGCTCG  
GTGCCTCGTGTGCTAGCTCGCCCCTCTCCAGGCAGGGGAGCGCCCACTT  
GTGGGTTGTTCCCCGGCTAACCAACGAACCCCGGCGCGTAAATGCGTCAA  
GGAATATAAACTTTATGTGTGTGCTCTCCTATCGCCCGGTTAGCCGGGCG  
TTGGAGTGGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATC  
TCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGA  
ATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGA  
AGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCC  
CCATATCCCACCTTGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCAC  
CGGTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCTCGGCATCGGGATGCCGCGG  
CGATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCAT  
GCCGTGCCAATGTGGGCTCGAAGGACCCTTTGTCGTTGTCTTAAGGCAAC  
CAAACCGTGCGACCCCAAGGTCAGGC

**>*S.ara ssp. arartica* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TGGAAGGAGAAGTCGTACCAAGTTTCGTAGGTGGACCTGCGGAAGGATC  
TTGTCGAGACCTGCCC GCGAGCGACCCGTGCTGTTCCCTCGGGGGGACGG  
GGCGTGCTCGGTGCCTCGTGCCTCTCGCCCCCTCCAGGCCGGGGAG  
CGCTACTGTGGGCTGTTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAA  
CTTCAAGGAATATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAGC  
CGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACG  
GATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAAGTAGCGAAATGCGATACTTGG  
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGACCATCGAGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGC  
CCGAAGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTC  
TCCCCCATAACCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACT  
CACCGGTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCTCGGCATCGGTATGCCG  
GGCGATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGC  
GTGCCGTGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGCGTGCCTAACGGCAA  
CCAAACCGTGGACCCCAAGGTCAG

**>*S. rhynhocarpa* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCCCAGCAGAGCGACCCGTGAACA  
CGTTCACCCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGCCTCGTGCGCCTGC  
TCGCCCCCCTCCCAGGCCGGGGAGCGCCCCTTGTGGGCTGTTTCCCCGG  
CCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAATATAAACTTAATG  
TGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGTTAGCCGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGT  
CTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGAT  
GAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTG  
AACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCTCCGGCTGAGGG  
CACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCATACCCACCTCGGT  
GGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTCGCGGCTGGCCT  
AAAATTGGAGCCCCCGGCATCCGGTATGCCGCGGCGATAGGTGGTGAAC  
AAGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGTGCCGTGCCAACGTGG  
GCTCGGAGGACCCTTTGGCGTTGCCTAACGGCAACCAAACCGTTGCGACC  
CCAGGTCAAGCGGGGCTACCC

**>*S. oligotricha* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

CTACAATTCGAGGGGACTGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGGCCCCGAG  
AGCGACCCGTGAACATGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGG  
TGCTCGTGCGCCTGCTCGCCCCCCTCCCAGGCCGGAGAGCGCCCCTTG  
TGGGCTGTTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAG  
GAATATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGTTAGCCGGGCGT  
TGGAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCT  
CGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGA  
ATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGA  
AGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCC  
CCATACCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCAC  
CGGTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCCCGGCATCGGGATGCCGCGG  
CGATAGGTGGTGAACAAGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGT

GCCGTGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTTGGCGTTGCCTAACGGCAAC  
CAAACCGTTGCGCCCCAGGGTCA

**>*S. lucida* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TCAGCGGGTAGCCCCGCTGACCTGGGGTCGCAACGGTTTGGTTGCCGTTA  
GGCAACGCCGAAGGGTCCTCCGAGCCCACGCTGGCACGGCACGCGCGAC  
GGGTTGCTTGCTTGGCCCCGAGGCCTTGTTACACCTATCGCCGCGGCAT  
ACCGATGCCGGGGGCTCCAATTTTAGGCCAGCCGCGACCGGTGAGTCGC  
GGGAAACCATCCTCCCTTCCCCTCCACCGAGGTGGGTTTGGGGGAGACGC  
GATGCGTGACGCCAGGCAGACGTGCCCTCAGCCGGAGGCTTCGGGCGC  
AACTTGCGTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCA  
AGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCG  
TTGCCGAGAGTCGTTTATTGTTAAGACATGGCACAGCTCCAACGCCCGGC  
TGACCGGGCAGCGGGAGAGCACACACATTAAGTTTATATTCCTTGACGCT  
TACGCGCCGGGGTTCGTTGTTTGGCCGGGGAAACAGCCCACAAGTGGGC  
GCTCCCCGGCCTGAGAGGGGGGCGAGCAGGCGCACGAGGCACCGAGCA  
ACGCCCCGTCCCCACGAGGTTGAACATGTTACGGGTCGCTCTGCTGGG  
CAGGTTTCGACAATGATCCTCCGCAGGTCACCTACGA

**>*S. brevicaulis* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

CGTAGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCCCAGCAGAGCG  
ACCCGTGAACACGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGCCT  
CGTGCGCCTGCTCGCCCCCTCCAGGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGGGC  
TGTTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAATA  
TAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAGCCGGGCGTTGGAG  
CTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCT  
CTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGC  
AGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCT  
CCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCAAA  
CCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGGTC

GCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCCTGGCATCGGTATGCCGCGGCGATA  
GGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGTGCCGT  
GCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAACGGCAACCAA  
CCGTGCGACCCCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCTGATT

**>*S. azirensis* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

AGGTGAGGTGACCTGGGGAAGGAATCATTGTCGAAACCTGCCAGGCAG  
AGCGACCCGTGGAAACACCGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCT  
CGGTGCCTCGTGCGCCTGCTCGCCCCCTCCAGGGTCGGGGAGCGCCCA  
CTTGTGGGCTGTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTC  
AAGGAATATAAACTTAATGTGTGCGCTCTCCCGCTGCCCGGTAAGCCGGG  
CGTTGGAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATA  
TCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGT  
GAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCC  
AAAGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGGCGTCACGCATCGCGTCTC  
CCCCAAACCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGACTC  
ACCGGTGCGGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCCCGGCATCGGTATGCCGC  
GGCGATAGGTGGTGAACAAGGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCG  
CGTGCCGTGCCAGCGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAACGGC  
AACCAAACCGTTGCGACCCCAGGTCAGGCGGGGGCTACCCGCTGAA

**>*S. argae beyaz* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TCCGTAGGTGACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCCAGCAGAG  
CGACCCGTGAACATGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGC  
CTCGTGCGCCTGCTCGCCCCCTTCCAGGCCGGGGAGCGCCACTTGTG  
GGCTGTTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGA  
ATATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAGCCGGGCGTTG  
GAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCG  
GCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATT  
GCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGC

CTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCCA  
AACCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCG  
GTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCCCGGCATCGGTATGCCGCGGCC  
GATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTCGCGCGTG  
CCGTGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAACGGCAACC  
AAACCGTGCGACCCCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCTGAT

**>*S. arar.ssp.daviisi* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

GTAGGTGACCTGCGAAGGATCATTGTGGAACCTGCCAGCAGAAGCGAA  
CCCGTGAACATTGTTCAACCTTCGTGGGGGGAACGGGGGCGTTGCTTCGG  
TGCTTCGTTGCGCCTTGCTTCGCCCCCCTTCCCAGGCCGGGGAAGCG  
CTCAACTTGTGGGCTGTTTCCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAA  
GCGTCAAGGAATATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTTAG  
CCGGGCGTTGGAGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAAC  
GGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTT  
GGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTG  
CGCCCGAAGCCTCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGC  
GTCTCCCCCATACCACCTCGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCG  
ACTCACCGGTCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAAGCCCTCGGCATCGGTATG  
CCGCGGCGATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTT  
CGCGCGTGCCGTGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAA  
CGGCAACCAAACCGTTGCGACCCCAGGTCAGGCGGGGCTA

**>*S. balansae* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

TTCCGTAGGTGAACTGCGGAAGGATTCATTGTGAAACGGCCCAGCAGAG  
CGACCCGGGAAACGTTCAACCTTCGTGGGTGCTGGGGCGTCGCTCGGTGCC  
TCGCGTGCTGCTCGCCCCCTCTCCCAGGCCGGGGAGCTCCCACCCGTGGG  
CTGTTCCCCCGGCTAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAATGCGTCAAGGA  
ATATCAACTCTATGTGTGTGCTCTCCTCTCGCCCGGTTAGCCGGGCGTTGG  
AGTGGCGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGG



CTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTG  
CAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCT  
TCTGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCAAA  
ATCCACCCTTGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGCGGCTCACCGG  
TCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCTCGGCATCGGGATGCCGCGGCGA  
TAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCGAGCAAGCAACCAGTCGCGCGTGCC  
GTGCCAGTTTGGGCTCGCAGGACCTTGC GTTGCCTTAAGGCAC

**>*S. akmaniana* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

CGGTAGGTGACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGAACCTGCCAGCAGAGC  
GACCCGTGAACACGTTCAACCTCGTGGGGGACGGGGCGTTGCTCGGTGC  
CTCGTGCGCCTGCTCGCCCCCTCCAGGCCGGGGAGCGCCCACTTGTGG  
GCTGTTTCCCGGCCAAACAACGAACCCCGGCGCGTAAGCGTCAAGGAA  
TATAAACTTAATGTGTGTGCTCTCCCGCTGCCCGGTCAGCCGGGCGTTGG  
AGCTGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGG  
CTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTG  
CAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCC  
TCCGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCCAT  
ACCCACCTCGGTGGAGGGGAAGGGAGGATGGTTTCCCGCGACTCACCGG  
TCGCGGCTGGCCTAAAATTGGAGCCCCCGGCATCGGTATGCCGCGGCGAT  
AGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGTGCGCGGTGCCG  
TGCCAACGTGGGCTCGGAGGACCCTTCGGCGTTGCCTAACGGCAACCAA  
ACCGTTGCGACCCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCTGATT

**>*Lychnis coronaria* Örneğine Ait nrDNA ITS Bölgesinin Baz Sırası**

AAGTTCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGT  
TTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGAACCTGCCAGCAG  
AGCGACCCGTGAACACGTTCAACCTCGTGGGTGTTGGTGC GTTGCCCGGT  
GCCTTGTGTACCGGGTCTGCCCTCTCCAGGCTGGGGAACGCCCACTTGT  
GGGCTCTTCCCGGCTAAACAACGAACCCCGGCGCGTAATGCGTCAAGG

AATATGAACTCAATGTGTGTGCTCTCCTGCTGCCCCGGTTAGCCGGGCGTT  
GGAGTGGTGCCATGTCTTAACAATAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTC  
GGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAA  
TTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAA  
GCTTTTAGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCTCCCC  
CAATTCCACCCTTGGTGGAGGGGAAGGAGGATGGTTTCCCGTGACTCACC  
GGTCGCGGCTAGCCTAAAATTGGAGCCCTCGGCATTGAGATGTCGCGGC  
GATAGGTGGTGAACAAGGCCTCGGCCAAGCAAGCAACCCGT