

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TÜRKİYE’DE YETİŞEN *ANTHRISCUS* PERS. (APIACEAE)
TÜRLERİNİN GENETİK YAPISININ VE FİLOGENETİK
AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN KLOROPLAST
GENOMUNUN KODLANMAYAN “trn” BÖLGELERİNE
GÖRE ARAŞTIRILMASI

Pelin YILMAZ SANCAR

Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK

ŞUBAT-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE’DE YETİŞEN ANTHRISCUS PERS. (APIACEAE) TÜRLERİNİN
GENETİK YAPISININ VE FİLOGENETİK AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN
KLOROPLAST GENOMUNUN KODLANMAYAN “trn” BÖLGELERİNE GÖRE
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ
Pelin YILMAZ SANCAR
112110201

Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Botanik

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK
(İkinci Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24. 01. 2017
Tezin Savunulduğu Tarih: 15. 02. 2017

ŞUBAT-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *ANTHRISCUS* PERS. (APIACEAE) TÜRLERİNİN
GENETİK YAPISININ VE FİLOGENETİK AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN
KLOROPLAST GENOMUNUN KODLANMAYAN “trn” BÖLGELERİNE GÖRE
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ
Pelin YILMAZ SANCAR
112110201

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 24.01.2017

Tezin Savunulduğu Tarih: 15.02.2017

Tez Danışmanı
(İkinci Danışman)
Diğer Jüri Üyeleri

: Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK (F.Ü.)
: Yrd. Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN (C.Ü.)
: Doç. Dr. Turan ARABACI (İ.Ü.)
Doç. Dr. İrfan EMRE (F.Ü.)
Doç. Dr. Abdullah ASLAN (F.Ü.)
Yrd. Doç. Dr. Mehmet TEKİN (C.Ü.)

ŞUBAT-2017

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında bana yön veren, bilgi birikimi ile sürekli beni destekleyen, çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK'e, Sivas'taki laboratuvar çalışmalarına yön veren ve göstermiş olduğu misafirperverliğinden dolayı ikinci danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN'a, daha önce yapmış olduğu arazi çalışmalarında topladığı *Anthriscus* cinsinin taksonlarına ait bitki örnekleriyle tez çalışmama materyal temin etmemi sağlayan sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet TEKİN hocama, laboratuvar imkanlarından faydalanmama müsaade eden sayın Doç. Dr. Abdullah ASLAN hocama, laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen sayın Arş. Gör. Dr. Aslı YILMAZ hocam ve arkadaşlarım sayın Arş. Gör. Irmak İÇEN TAŞKIN ve sayın Dr. Azize DEMİRPOLAT'a, tez çalışmalarım boyunca biyoloji bölümünün imkanlarını kullanmama müsaade eden eski ve yeni bölüm başkanlarımız sayın Prof. Dr. A. Harun EVREN ve sayın Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a, FF.14.23. no'lu projeye maddi yönden kaynak sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, F. Ü. Rektörü sayın Kutbeddin DEMİRDAĞ'a ve hayatımın her aşamasında sürekli yanımda olan, manevi desteklerinden güç aldığım sevgili ailem, eşim ve canım oğlum Yusuf Kağan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Pelin YILMAZ SANCAR

ELAZIĞ - 2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	V
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
TABLolar LİSTESİ	X
KISALTMALAR LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bitki Sistematiğinde Yaşanan Gelişmeler	2
1.2. Bitki Sistematiği Alanında Kullanılan Karakterler (Özellikler).....	4
1.3. Moleküler Markör Teknikleri.....	5
1.4. Filogenetik Analizlerde Kullanılabilen Bitki Genom Kaynakları ve Özellikleri....	7
1.4.1. Nükleer DNA (nr DNA).....	7
1.4.2. Mitokondrial DNA (mtDNA).....	8
1.4.3. Kloroplast DNA (cpDNA)	10
1.5. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç Oluşturma.....	12
1.5.1. Maximum Parsimony: MP Yöntemi	14
1.5.2. Maximum Likelihood: ML Yöntemi.....	14
1.5.3. Uzaklık (Distance) Yöntemi.....	15
1.5.4. Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Programlar.....	16
1.6. Apiaceae Familyası İle İlgili Genel Bilgiler.....	16
1.7. Apiaceae Familyası Taksonlarının Filogenisi	20
1.8. Türkiye’de Apiaceae Familyası.....	23
1.9. <i>Anthriscus</i> Pers. Cinsi.....	23
1.10. Çalışmanın Amacı	27
2. MATERYAL VE METOT	28
2.1. Çalışılan Bitki Örneklerinin Temini.....	28
2.2. Yapraklardan DNA İzolasyonu	36
2.3. PCR Çalışmaları	40
2.4. PCR Ürünlerinin Gözlenmesi.....	42

2.5. DNA Dizi (Sekans) Analizi İşlemi.....	43
2.6. Verilerin Değerlendirilmesi.....	43
3. BULGULAR	44
3.1. DNA İzolasyonu Sonuçları	44
3.2. Kloroplast DNA'nın <i>trnL3'-trnF</i> Bölgesinin Çoğaltılması.....	46
3.3. Kloroplast DNA'nın <i>trnL3'-trnF</i> Bölgesinin Sekans Analiz Sonuçları.....	47
3.4. Veri Analizleri	47
3.4.1. Kloroplast DNA'sına Ait <i>trnL3'-trnF</i> Bölgesinin Bireylere Göre Nükleotid Kompozisyonları	47
3.4.2. Bireyler Arasındaki Moleküler Çeşitlilik Parametreleri.....	49
3.4.3. Bilgi Verici Bazların (Varyasyonlu Bölgelerin) Mutasyonel Özellikleri.....	56
3.4.4. <i>trnL3'-trnF</i> Bölgesinin Baz Dizilimine Göre Taksonların Genetik Özellikleri. 60	
3.4.4.1. <i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (22., 26., 27., 29., 30., 43., 54., 77., 88., 154., 231., 244., 254. Baz) Özellikleri	62
3.4.4.2. <i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 37., 77., 292., 293. Baz) Özellikleri	63
3.4.4.3. <i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 37., 77., 88., 161., 292., 293. Baz) Özellikleri	63
3.4.4.4. <i>A. kotschyi</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (6., 7., 26., 27., 29., 30., 44., 60., 61., 74., 77. Baz) Özellikleri	64
3.4.4.5. <i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (22., 23., 24., 25. 26., 27., 29., 30., 75., 77. Baz) Özellikleri	65
3.4.4.6. <i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri	66
3.4.4.7. <i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri	67
3.4.4.8. <i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>cheliki</i> Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (2., 26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri	68
3.4.5. Bireyler Arasındaki Filogenetik İlişkilerin Belirlenmesi	69
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	72
5. ÖNERİLER.....	89
KAYNAKLAR.....	91
EKLER	103
ÖZGEÇMİŞ	124

ÖZET

TÜRKİYE’DE YETİŞEN *ANTHRISCUS* PERS. (APIACEAE) TÜRLERİNİN GENETİK YAPISININ VE FİLOGENETİK AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN KLOROPLAST GENOMUNUN KODLANMAYAN “*trn*” BÖLGELERİNE GÖRE ARAŞTIRILMASI

Anthriscus Pers. (Apiaceae/Umbelliferae) cinsi Apiaceae familyasına ait olup, Dünya üzerinde 16, ülkemizde ise 8 türle temsil edilmektedir.

Bu çalışmada Türkiyede’ki *Anthriscus* türlerinin kloroplast genomundaki kodlanmayan transfer ribonükleik asit bölgesinin (*trnL-trnF*) dizi analiz bilgileri kullanılarak, taksonların birbirine olan genetik yakınlığı ve uzaklığının belirlenmesi, türler arası akrabalık, sistematik ve filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. *Anthriscus* cinsinin Türkiye’deki taksonlarına ait 48 bireyin yapraklarından CTAB yöntemi ile DNA izole edilmiş, izole edilen genomik DNA üzerinden *trnL-trnF* bölgesinin e-f primerleri kullanılarak PCR’da çoğaltılmıştır. Elde edilen veriler Mega 5.1 programı ile değerlendirilip “Maksimum Parsimony” yöntemi kullanılarak filogenetik ağaç hazırlanmıştır.

trnL-trnF bölgesinin sekans diziliminden yararlanarak hazırladığımız filogenetik ağaca göre *A. cerefolium* (L.) Hoffm., *A. caucalis* M.-Bieb. ve *A. tenerrima* Boiss. & Spruner türlerinin türleşmelerini tamamladığı ve diğer türlerle arasında türleşme yönünden bir izolasyon sağlandığı gözlenmiştir.

A. sylvestris türüne ait alttürler olan *A. sylvestris* (L.) Hoffm. subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* (L.) Hoffm. subsp. *nemorosa* (M.-Bieb.) Koso-Pol.’nın genetik açıdan birbirlerinden iyi izole oldukları, hiçbir şekilde aralarında hibritleşmelerin olmadığı ve bazı bilim adamlarınca kabul edildiği gibi *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. ve *Anthriscus nemorosa* (Bieb.) Sprengel olmak üzere farklı iki tür olabileceği görülmektedir. Bulgularımız, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*’nın *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*’ten ziyade *A. lamprocarpa* türüne genetik açıdan daha yakın olduğunu ortaya koymaktadır. *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*, *A. lamprocarpa* Boiss. subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Tekin & Civelek taksonlarının ise muhtemelen dikey gen transferi yollarından biri olan hibritleşme ile kendi aralarında gen akışı sağladığı ve türleşmelerinin tamamlanmadığı gözlenmiştir. Daha önce Tekin ve Civelek (2013) tarafından morfolojik

ve anatomik verilere dayanılarak yapılan revizyon çalışmasında *A. lamprocarpa*'nın iki farklı alttüründen biri olarak saptanan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonunun gerçekten yeni bir alttür olduğu moleküler verilerin temel alındığı çalışmamızın sonuçları ile de gösterilmiştir. Ancak, *A. lamprocarpa* türünün Türkiye'de bilinen üç populasyonunun türaltı (infraspesifik) kategoriler seviyesinde yeniden düzenlenmesini, Osmaniye populasyonunun *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttüründen alınarak *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürüne dahil edilmesini ve Hatay ile Osmaniye populasyonlarının *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürü içinde iki farklı yeni varyete yapılmasını önermekteyiz. Ayrıca, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* alttürlerinin *Anthriscus sylvestris* ve *Anthriscus nemorosa* olarak tür seviyesine yükseltilmelerini, *A. cerefolium* türünün *Anthriscus* seksiyonundan ayrılarak *Cerefolium* (Fabr.) Neilreich. seksiyonuna aktarılmasını da önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Apiaceae, *Anthriscus*, PCR, Filogeni, *trnL3'*-*trnF*

SUMMARY

THE INVESTIGATION ON THE GENETIC STRUCTURES AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF THE SPECIES OF THE GENUS *ANTHRISCUS* PERS. (APIACEAE) DISTRIBUTION IN TURKEY, BY USE OF NON - CODING “*trn*” REGIONS OF CHLOROPLAST GENOME

The genus *Anthriscus* Pers. (Apiaceae/Umbelliferae) species belongs to the family Apiaceae and is represented by 16 species on the world and by 8 species in our country.

In this study, the aim is to determine the genetic proximity or remoteness of *Anthriscus* species in Turkey, to reveal the lines of descent with evolutions, systematics and phylogenetic relations among species by using the series analysis information of uncodified transfer ribonucleic acid section (*trnL-F*) in chloroplast genome. DNA was isolated from the leaves of 48 individuals belonging to the species of the genus *Anthriscus* in Turkey by CTAB method and isolated genomic DNA was multiplied in PCR by using e-f primaries of *trnL-F* section. The obtained data was evaluated by Mega 5.1 program and phylogenetic tree was prepared by using Maximum Parsimony method.

According to the phylogenetic tree that we prepared by using the sequence line up of *trnL-F* section, it was observed that the species *A. cerefolium* (L.) Hoffm., *A. caucalis* M.-Bieb. and *A. tenerrima* Boiss. & Spruner completed their speciations and an isolation with other species in terms of speciation was provided.

A. sylvestris (L.) Hoffm. subsp. *nemorosa* (M.-Bieb.) Koso-Pol. and *A. sylvestris* (L.) Hoffm. subsp. *sylvestris* accepted as two different subspecies of the species *A. sylvestris* are genetically well isolated from each other, there is no hybridization between them in any way and *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. and *Anthriscus nemorosa* (Bieb.) Sprengel are two different species as accepted by many scientists. Our results revealed that the subspecies *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* is genetically related with the species *A. lamprocarpa* rather than the subspecies *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*. It has been observed that the taxa *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*, *A. lamprocarpa* Boiss. subsp. *lamprocarpa* and *A. lamprocarpa* Boiss. subsp. *chelikii* Tekin & Civelek are likely to have a gene flow between themselves through hybridization that one of the vertical gene transfer pathways, and they have not completed their speciations yet. In a previous revision study based on the morphological and anatomical data conducted by Tekin ve Civelek (2013), it has been

reported that *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* as a new taxon which is one of two different subspecies of the species *A. lamprocarpa* has also been shown really a new subspecies by results of our study based on molecular data. However, we suggest the rearrangement of the three known populations of the species *A. lamprocarpa* in Turkey at the level of infraspecific categories: Osmaniye population need to exclude from the subspecies *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* and count in the subspecies *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*, Hatay and Osmaniye populations need to sparate in two new varieties in the subspecies *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*. The subspecies *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* and *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* need to upgrade to the species level as *Anthriscus sylvestris* and *Anthriscus nemorosa*, and the species *A. cerefolium* (L.) Hoffm need to include in the section *Cerefolium* (Fabr.) Neilreich.

Key Words: Apiaceae, *Anthriscus*, PCR, Phylogeny, *trnL3'*-*trnF*

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Bir PCR çalışmasının döngüsel kademeleri (Mridha. S, 2015)	6
Şekil 1.2. Nüklear DNA üzerinde ITS bölgesinin konumu (Bayer, R.J., 1996)	8
Şekil 1.3. <i>Arabidopsis thaliana</i> bitkisine ait halkasal mitokondrial genom (Dobrowski ve ark., 1998).....	9
Şekil 1.4. Kloroplast DNA'nın sirküler (halkasal) dublex yapısı ve bölgeleri (URL-2) ...	11
Şekil 1.5. Kloroplast DNA'nın <i>trn</i> T-F bölgesi (Taberlet ve ark., 1991).....	12
Şekil 1.6. Filogenetik Ağaç Çizimi (Freeman ve Herran, 1999).....	13
Şekil 1.7. Köksüz Ağaç (Freeman ve Herran, 1999).....	13
Şekil 1.8. <i>Anthriscus</i> cinsi taksonlarının dünya üzerindeki yayılışı (Tekin ve Civelek, 2013).....	24
Şekil 1.9. <i>Anthriscus</i> cinsi taksonlarının Türkiye'deki yayılışı (Tekin ve Civelek, 2013) .	24
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan taksonların toplandığı lokalitelerin Türkiye haritası üzerindeki yerleşimleri (Orijinal)	33
Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan taksonların herbaryum örneklerinin fotoğrafı (Tekin ve Civelek, 2013)	35
Şekil 2.3. DNA izolasyonundan görüntüler	39
Şekil 2.4. Agaroz jelin hazırlanması	42
Şekil 3.1. PCR çalışmalarından bir örnek	46
Şekil 3.2. Varyasyon açısından değişken bazların pozisyonu.....	54
Şekil 3.3. Çalışılan <i>Anthriscus</i> taksonları ve bireyleri arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Maximum Parsimony ağacı	70
Şekil 4.1. <i>A. lamprocarpa</i> türünün Türkiye'de bilinen popülasyonları (Orijinal)	82
Şekil 4.2. <i>Anthriscus</i> cinsine ait fenogram (Spalik, 1996)	85
Şekil 4.3. <i>Anthriscus</i> cinsinin de içinde yer aldığı filogenetik ağaç (Downie ve ark., 2000)	87
Şekil 4.4. <i>Anthriscus</i> cinsinin de içinde yer aldığı filogenetik ağaç (Spalik ve ark., 2001) ..	88

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan taksonların lokalite ve diğer etiket bilgileri....	29
Tablo 2.2. DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltilerin hazırlanması	36
Tablo 2.3. Enzim 1 ve çalışma koşulları.....	40
Tablo 2.4. Enzim 2 ve çalışma koşulları.....	41
Tablo 2.5. Enzim 3 ve çalışma koşulları.....	41
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bireylerin DNA konsantrasyonları.....	44
Tablo 3.2. Kloroplast DNA'sına Ait <i>trnL3'-trnF</i> Bölgesinin Bireylere Göre Nükleotid Kompozisyonları	48
Tablo 3.3. Bireyler arasındaki moleküler çeşitlilik parametreleri	50
Tablo 3.4. Çalışılan taksonlara göre bilgi verici bazların pozisyonları	55
Tablo 4.1. Literatür kayıtlarında belirtilen ve revizyon çalışmasında ülkemizden tespit edilmiş <i>Anthriscus</i> taksonları	73
Tablo 4.2. <i>Anthriscus</i> seksiyonu bireylerinin bilgi verici bazlarının pozisyonları	75
Tablo 4.3 <i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> 'e ait bilgi verici bazların pozisyonları.....	76
Tablo 4.4. <i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemarosa</i> 'ya ait bilgi verici bazların pozisyonları.....	77
Tablo 4.5. <i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i> 'ya ait bilgi verici bazların pozisyonları..	78
Tablo 4.6. <i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i> 'ye ait bilgi verici bazların pozisyonları.....	79
Tablo 4.7. <i>Cacosciadium</i> seksiyonu bireylerinin bilgi verici bazlarının pozisyonları	80
Tablo 4.8 <i>Anthriscus</i> cinsine ait tüm taksonların ortak bilgi verici bazlarının pozisyonları	84

KISALTMALAR LİSTESİ

AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
ark.	: Arkadaşları
ATP	: Adenozin Trifostat
BIC	: Bayesian Information Criterion
bp	: Baz Çifti
C	: Korunmuş Bölgeler
C (S)	: Sitozin
cDNA	: Komplementer DNA
cpDNA	: Kloroplast DNA'sı
CTAB	: Cetly Trimethyl Ammonium Bromide
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleotid Trifosfat
FASTA	: Nükleotid veya peptid sekansların diziminde kullanılan biyoinformatik format
ISSR	: Ara Basit Dizi Tekrarları
ITS	: İç Transkripsiyonu Aralayıcı Bölge
ii	: Homolog Baz Çifti Sayısı
µM	: Mikromolar
µL	: Mikrolitre
kb	: Kilo baz
mb	: Milyon baz
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
mtDNA	: Mitokondri DNA'sı
NCBI	: National Center of Biotechnology Information
nrDNA	: Nükleer DNA
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pi	: Bilgi Verici Bölgeler
R	: Transisyon ve Transversiyon Çiftlerinin Birbirine Oranı
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA

RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	: Ribonükleik Asit
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (devir/dakika)
r-RNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
S	: Tekli Kısımlar
SRAP	: Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm
SSR	: Basit Dizi Tekrarları
sv	: Transversiyonal Çiftler
t-RNA	: Taşıyıcı Ribonükleik Asit
T92	: Tamura-3-parameter
UPGMA	: Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu
TE	: Tris- EDTA

1. GİRİŞ

Türkiye, gerek bitki çeşitliliği gerekse bitkilerin yaşam alanları bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Ülkemizin zengin bir damarlı bitkiler florasına sahip olmasında; 3 farklı fitocoğrafik bölgenin kesiştiği yerde bulunması, Asya ve Avrupa kıtaları arasında köprü konumunda olması, bitkilerin yayılışı bakımından önemli bir fiziksel ve iklimsel bariyer fonksiyonu gören Anadolu Diyagonalinin varlığı, çok farklı iklim tiplerinin etkisi altında kalması, 0-4500 metre arasında değişen yükselti farklarının bulunması, deniz, ırmak, göl, nehir, bataklık gibi çok farklı ekosistemleri bir arada barındırması gibi etmenler rol oynamaktadır (Davis ve Hedge, 1975; Ekim, 1997; Ekim ve Güner, 1986; Avcı, 1993).

Türkiye Florası ile ilgili ilk önemli araştırma İsviçre’li botanik bilimci Boissier’in yayınladığı ‘Flora Orientalis’ adlı 6 ciltlik çalışmadır (Boissier, 1867-1888). Flora Orientalis’ten uzun süre sonra yazılan, ‘Flora of Turkey and the East Aegean Islands’ ise ülkemizin damarlı bitkiler florası hakkında yazılmış en önemli eserdir. Editörlüğünü P. H. Davis’in yaptığı çalışma dokuz cilttir (Davis, 1972). Türkiye Florası’nın ilk 9 cildinin basılmasından sonra birçok yeni kayıt ve yeni taksonlar bulunmuştur. Yeni bulunan bu taksonlar ek cilt olarak yayınlanarak cilt sayısı 11’e çıkmıştır (Özhatay, 2000). Flora’nın yazımı tamamlandıktan sonraki yıllarda yeni taksonların hızla yayınlanması, bazı bölgesel floristik çalışmalarda yeni varyasyon sınırlarının tespit edilmesiyle birlikte Türkiye Florası’nın tam olarak tamamlanamadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Flora’nın yazımı sırasında zaman ve materyalin kısıtlılığı sebebiyle bazı cinslerdeki eksiklik ve ilaveler Türkiye Florası’nda sadece belirlenebilmiş ancak çözümlenememiştir. Birçok bitki türünü teşhis ederken karşılaşılan problemler, bazı cinsler hatta familyalarda bile dikkati çekmektedir. Özellikle bu problemli taksonlardaki varyasyon sınırlarının ve olabilecek yeni taksonların tespiti için öncelikle cins düzeyinde revizyon çalışmalarının günümüzdeki bazı ileri teknikler kullanılarak yapılması gerekmektedir. Bu amaçla, son zamanlarda özellikle taksonomik açıdan sorunlu cinsler üzerinde revizyon çalışmaları yapılmaktadır. Bazı cinsler neredeyse bütün türleri ile, çok sayıda tür ve tür altı taksona sahip cinsler ise seksiyonlar düzeyinde çalışılmaktadır (Doğan, 2006).

Ülkemizin vasküler (damarlı) bitki sayısı 11 ciltlik Türkiye Florası (Davis 1965-1985; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000)’nda toplam 9222 tür ve bunlardan 3708’i endemik iken, daha sonra yapılan çalışmalarla yayınlanmış olan Dünya ve Türkiye için

yeni türlerle birlikte toplam takson sayısının 11224, endemik takson sayısının ise 4001 olduğu ve endemizm oranının da % 35,6 olduğu belirtilmiştir (Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay ve ark., 2009). Son yıllarda birçok Türk botanikçinin katkısıyla hazırlanan ‘Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) (Güner ve ark., 2012) kitabında, daha önce sadece ülkemizde yayılış gösterdiği bilinen bazı türlerin komşu ülkelerde de yayılış gösterdiğinin saptanmasıyla, Türkiye’nin sahip olduğu toplam tür ve endemik tür sayısında değişiklik yapılmıştır. Buna göre ülkemizde toplam tür sayısı 9753, endemik tür sayısı 3035, endemizm oranı ise % 31.12 olarak belirtilmiştir. Türaltı taksonlarla birlikte ülkemizdeki doğal yayılış gösteren damarlı bitkilerin toplam takson sayısı 11466, endemik takson sayısı 3649 ve türaltı taksonlarla birlikte endemizm oranı da % 31.82 olarak belirtilmiştir (Güner ve ark., 2012).

Türkiye Florası’na göre dikotiller içinde özellikle Apiaceae (Umbelliferae) familyası cinslerinde bazı sorunlar göze çarpmaktadır. Apiaceae familyasında bulunan taksonların teşhis edilebilmeleri için bilhassa meyveleri ve taban yapraklarının bulunması gerekmektedir. Taksonlar tanımlamalarında kullanılacak bu karakterleri ile birlikte toplanamazlar ise yanlış teşhis edilebilirler. Apiaceae familyasında bulunan çoğu takson çiçeklenme dönemine geç geçerler. Bu durum da morfolojik parametrelere dayalı teşhiste çok önemli olan meyvenin toplanmasını mümkün kılan meyveli dönemi geciktirir, meyveli dönemde ise yine teşhiste önemli olan yapraklar özellikle de taban yaprakları genellikle kuruyarak ortadan kalkmış olmaktadır. Bu nedenle, Apiaceae familyası üyeleri Türkiye’de ve Dünyada en fazla probleme sahip bitki guruplarından biri olarak belirlenmiştir (Doğan, 2006).

1.1. Bitki Sistematğinde Yaşanan Gelişmeler

Aristo ile başlayan sistematik çalışmalar büyük ölçüde morfolojik karakter temeline dayanmaktaydı. Bu geleneksel yaklaşımlar bazı değişimlerle günümüzde de halen kullanılmaktadır. Ancak, bir bitkinin tür sınırlarının tanımlanmasında sadece morfolojik verilerin yeterli olmadığı durumlar da mevcuttur (Hillis ve Moritz, 1990; Işık ve ark., 2007). Bu durumdaki sorunları ve sistematik problemleri çözmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Sistematik problemlerin çözümündeki son gelişmeler, DNA temelli belirteç sistemleriyle genotipin doğrudan ya da dolaylı olarak belirlenmesi üzerinde

olmuştur. Bu DNA temelli analizler, pek çok sorunun çözümünde umut verici olarak görülmektedir (Crawford, 2000; Doyle ve Doyle, 1991).

Her bireyin DNA yapısı kendine özgüdür. DNA analizleri sırasında canlının genetik yapısını tanımlamak amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik bileşenlere DNA markörü denilmektedir. Moleküler markör (moleküler belirteç) ile genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçası temsil edilmektedir. Son yıllarda moleküler genetik alanındaki gelişmelere paralel olarak moleküler markör çeşitlerinin de artması genom analizlerinde ve bitki genetiği çalışmalarında devrim niteliğinde gelişmelere yol açmıştır. DNA markörleri sayesinde farklı genotiplere sahip bireylere ait DNA dizilerindeki farklılıklar çeşitli şekillerde ortaya konulabilmektedir. Böylece tür içi ve türler arası genetik farklılıklar bireylerin DNA'larının karşılaştırılmasıyla moleküler düzeyde araştırılabilmektedir.

DNA temelli teknikler günümüzde bitkisel materyallere de uygulanmakta; bitki genetik çeşitliliği, akrabalığın tespiti, kültür ve yabani formların belirlenmesi, taksonomik çalışmalar, evrimsel sorunlar, populasyon biyolojisi, ebeveyn tayini, bireysel genetik varyasyonların belirlenmesi, genom haritalarının oluşturulması, tür içindeki türaltı grupların (ırkların) belirlenmesi, bitki taksonlarının monofiletik mi polifiletik mi olduğunu belirleme, doğal taksonların ortaya çıkarılması, taksonlar arası filogenetik ilişkilerin belirlenmesi, filogenetik ağaç ve kladogram hazırlama, revizyon çalışmaları, polimorfizm belirleme, populasyon genetiği, bitki ıslahı gibi birçok çalışmada kullanılmaktadır (Mullis ve ark., 1986; Williams ve ark., 1990; Welsh ve McClelland, 1990).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte morfolojik karakterlere dayalı klasik (ortodoks) sistematik çalışmalarının bitkilerin sistematik kategorilerini tanımlamak için yeterli olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum taksonomi çalışmalarında daha çok moleküler yöntemlere ağırlık verilmesiyle sonuçlanmıştır (Kabaoğlu, 2007). Günümüzde bitki sistematigi alanında daha çok nüklear genom, kloroplast genomu ve mitokondrial genom üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır. Kloroplast genomunun genel yapısal özellikleri bitki taksonomisi alanında kullanılmak üzere kapsamlı biçimde araştırılmış ve kloroplast DNA'sının taksonomik sorunların çözümünde tür, cins ve familya seviyelerinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Sistematikçiler bu çalışmalar sırasında öncelikle çalıştıkları taksonomik kategorilerle ilgili temel grupların tespit edilmesini sağlamışlardır. Daha sonra da bu gruplar arasındaki evrimsel ilişkileri tespit etmek amacıyla DNA sekans çalışmalarına yönelmişlerdir. (Doğan, 2007).

1.2. Bitki Sistematiki Alanında Kullanılan Karakterler (Özellikler)

Günümüzde sistematik alanında kullanılan özellikler genel hatlarıyla; morfolojik-anatomik, biyokimyasal ve DNA belirteçleri olmak üzere 3 tipte olabilmektedir.

Sistematik alanında bitkileri tanımlamada kullanılan morfolojik ve anatomik özellikler; tür, çeşit ve tip tanımlanmasında kullanılmakla birlikte, mevsimlere, ekolojik koşullara, bitkinin yaşına göre değiştiğinden her zaman kesin sonuç vermemekte ve bazı yanılgılara sebep olmaktadır. Bu nedenle, yalnızca morfolojik ve anatomik karakterlerle yapılan tanımlamalar, başka özelliklerle desteklenmediği sürece güvenilir olmayabilir (Draper ve Cooke, 1983). Morfolojik özelliklerin en belirgin avantajı analizlerinin kolay olmasıdır (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Sonuç olarak morfolojik ve anatomik belirteçlerin sayılarının az olması, çevre faktörlerinden etkilenmesi ve bir çoğunun mutasyonlar sonucu oluşması gibi olumsuz özellikleriyle bu özelliklerin kullanımları sınırlı olmaktadır (Bretting ve Widrlechner 1995).

Biyokimyasal özellikler, biyokimya alanında son çeyrek yüzyılda meydana gelen gelişmelerle birlikte ortaya çıkmış olup, sistematik karakterler konusunda da yeni bir bilimsel çağ ve yeni bir bilimsel alan açmıştır. Öncelikle birbirinden ayrılabilir biyokimyasal formları olan enzimlerin veya depo proteinlerinin sistematik karakter olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Depo proteinleri ve enzimler bir matriks üzerinde hareket ettirilip boyandığında farklı genotiplerde ortaya çıkan bant farklılıkları, farklı kemotiplerin göstergesi niteliğinde olup sistematik alanında kullanılabilecek biyokimyasal karakterler olarak değerlendirilebilirler. Bu belirteçlerin en büyük avantajları analizlerinin çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir olmasıdır. En büyük dezavantajı ise sistematik alanında kullanılabilecek karakter (özellik) sayısının çok az olmasıdır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Sistematikte kullanılan DNA özellikleri, farklı genotiplere ait DNA dizi farklılıklarıdır. Son yıllarda DNA'daki dizi farklılıklarının doğrudan sistematik karakter olarak kullanılabileceği fikrinin ortaya çıkmasıyla birlikte, taksonomik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanan bu genetik özellikler, çeşitli avantajlara sahiptirler. Örneğin; çevresel faktörlerden etkilenmezler, çekirdek ve maternal kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomları ayrı ayrı çalışılabilir, her bir ebeveynden gelen farklı karakterler tespit edilebildiği için bitkilerin genetik orjini de tespit edilebilir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

1.3. Moleküler Markör Teknikleri

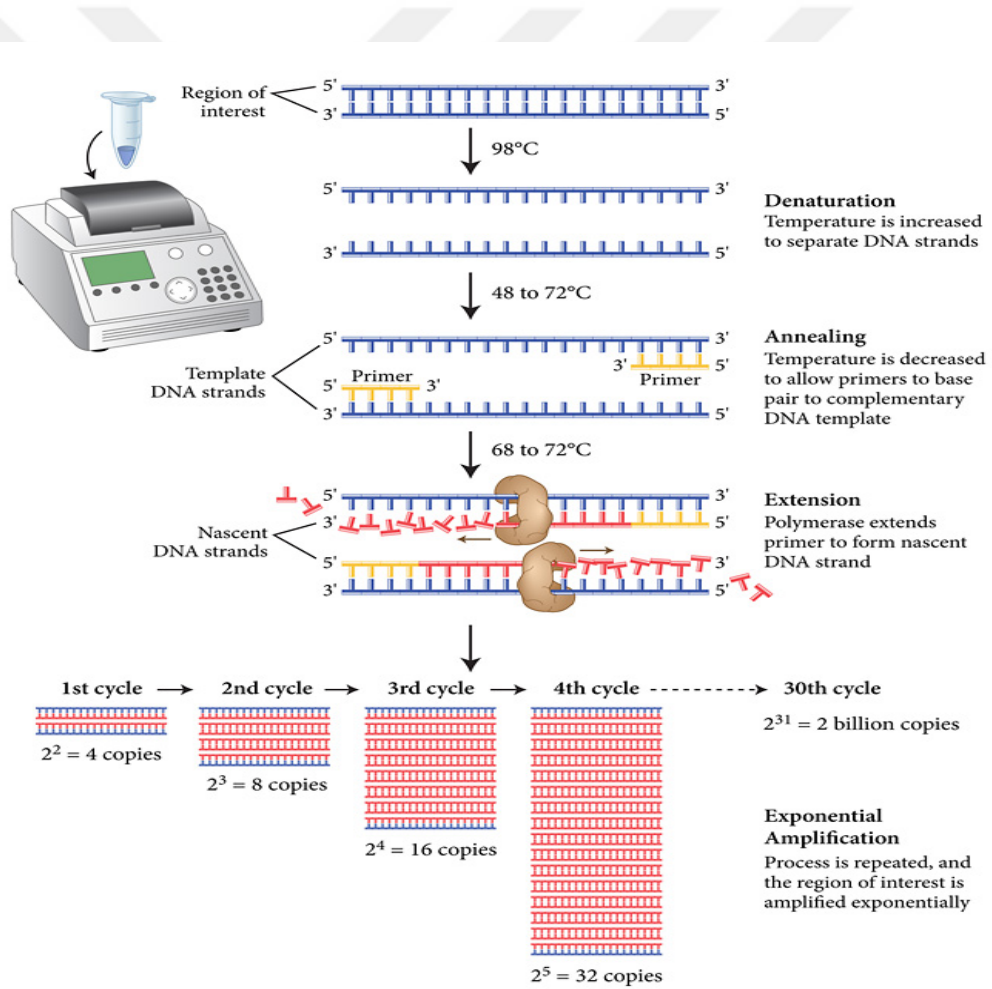
Moleküler markörler, bolluk ve güvenilirlik açılarından oldukça önemli olup kaynağını kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA’lardan alır. DNA bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100’e yakın güvenilirlikle değerlendirilir. Bugün moleküler markörler bitki sistematğinde, ıslahında ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Moleküler sistematik araştırmacıları, çalışmalarında fenotipik karakterler yerine, moleküler teknikleri kullanırlar. İki ayrı türe ait homolog (aynı kökene sahip) bir makro molekülün amino asit veya nükleotid dizileri arasındaki fark bu türler arasındaki evrimsel mesafeyi de gösterir. Çünkü, iki farklı tür ortak atadan ayrılarak evrimleşmeye başladıktan sonra DNA’larında birçok mutasyon oluşmaktadır. Bunların makro molekülün birincil yapısında neden olduğu dizi farklılıklarının sayısı, evrim bilimcilerce bir ölçü olarak kullanılmaktadır. Dizi farkının fazla olması, bireylerin hem ata hücreden hem de birbirlerinden uzun zaman önce ayrılarak evrimleştiklerini işaret eder. Az olması ise bu canlıların yakın akraba olduklarını hatta aynı türe dahil olabileceklerini gösterir (Ertaş, 2013; Berkay, 2012).

Evrim esnasında DNA dizileri birbirinden uzaklaşıp, değiştiği için, diziler arasındaki farklılıklar, aralarındaki evrimsel uzaklığı hesaplamada kullanılabilir. Genetik kıyaslamalar genellikle, türler arasındaki evrimsel akrabalığı nitelemeye en doğru yöntem olarak kabul edilir. Bu yöntem, fenotipik kıyaslamalarla edinilmiş bazı yanıltıcı tespitleri onarabilmektedir. Türler arasındaki evrimsel uzaklıklar “evrim ağacı” ya da “filogenetik ağaç” şemaları ile gösterilirler. Bu şemalar kardeş taksonların ortak bir atadan değişimini ve zaman içinde taksonların birbirinden uzaklaşmalarını gösterir (Wolfe ve ark., 1987).

İdeal bir moleküler markör’ın sahip olması gereken bir takım kriterler gerekmektedir ki bunlardan birincisi, türleri ayırabilecek yeterliliğe sahip olmasıdır. İkinci olarak, çok farklı bitki taksonları için kullanılabilecek standart bir DNA bölgesi olması gerekmektedir. Üçüncü olarak, hedef DNA bölgesi türlerin ait olduğu taksonomik grupları (cins, aile vb.) kolaylıkla ayırt edebilecek filogenetik bilgiyi taşımalıdır. Dördüncü olarak markör bölgesi, çok güvenilir ve korunaklı olmalı, DNA çoğaltımı ve dizilenmesi açısından da uygun olmalıdır. Son olarak, hedef DNA bölgesi degrade DNA çoğaltımına izin verebilecek uzunlukta olmalıdır (Taberlet ve ark., 2007)

Moleküler markör teknikleri DNA molekülündeki korunmuş bölgelerdeki farklılığın saptanması amacıyla çeşitli tipteki primerlerin, PCR (Polymerase Chain Reaction) metodu kullanılarak çoğaltılmasına dayanır. PCR ya da polimeraz zincir reaksiyonu, moleküler biyolojide uygulanan bir teknik olup, DNA zincirinin bilinen iki parçası arasında uzanan özel bir DNA bölümünün enzimatik olarak çoğaltıldığı *in vitro* bir tekniktir. PCR reaksiyonu, DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denaturation) daha sonra sentetik oligonükleotidlerin (primer) hedef DNA'ya bağlanması (annealing), sonra zincirin uzaması (extension) ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanması esasına dayanır. Bu üç adım (denatürasyon / primer bağlanması / DNA sentezi) bir PCR döngüsünü oluşturur. Her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Bir PCR çalışmasının döngüsel kademeleri (Mridha. S, 2015)

PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamaktadır. Bir PCR döngüsü için; uygun boyutlardaki bir PCR tüpü içerisinde DNA örneği, çoğaltılacak olan bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer, dNTP (A,T,C,G), ısıya dayanıklı Taq DNA-Polimeraz enzimi, uygun pH ve iyon koşullarını (Mg^{+2}) sağlayan tampon karışımı gereklidir.

Günümüzde genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan PCR temelli moleküler markör tekniklerinden bazıları şunlardır;

- RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA = Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA),
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism = Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi),
- Mikrosatellit veya SSR (Simple Sequence Repeats = Basit Dizi Tekrarları),
- Organel mikrosatellitleri,
- SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism = Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm), -ISSR (Inter Simple Sequence Repeats = Ara Basit Dizi Tekrarları),
- Mikroarray, SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms = Tek Nükleotid Polimorfizimleri).

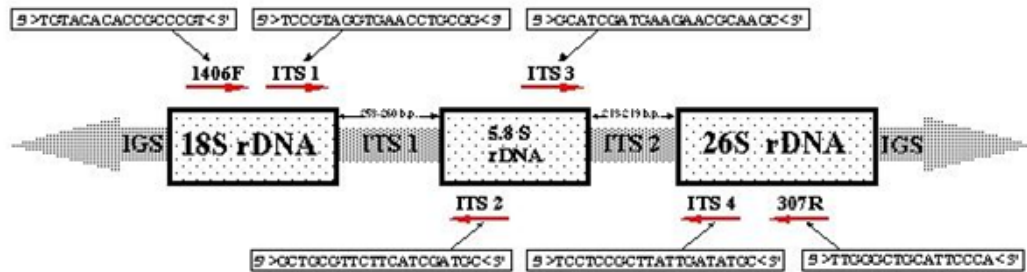
1.4. Filogenetik Analizlerde Kullanılabilen Bitki Genom Kaynakları ve Özellikleri

"Genom" denildiğinde, çekirdek DNA'sı (nr DNA), mitokondri DNA'sı (mtDNA) ve kloroplast DNA'sı (cpDNA) anlaşılmaktadır. Bitki genom kaynaklarının filogenetik sistematik alanında kullanımı biyolojik çeşitliliğin ve türlerin belirlenmesinde standart DNA bölgelerinin kullanılmasına dayalı yeni ve yararlı bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Genom kaynaklarının moleküler yapısı, filogenetik analizlerdeki kullanımı ve ortaya koyduğu sonuçlar açısından önemi aşağıda kısaca anlatılmaktadır.

1.4.1. Nüklear DNA (nr DNA)

Bitki hücre çekirdeği genomu yani nüklear DNA, çok büyük bir çeşitliliğe sahiptir. Bu çeşitliliğin kaynakları arasında poliploidi, gen duplikasyonu veya silinmesi, mutasyonlar, genetik sürüklenme sayılabilir. Angiospermiler (çiçekli bitkiler)'e ait türler

çok sayıda kromozoma sahiptirler. Diğer bitki türleri ise daha az sayıda kromozoma sahip olsalar dahi onların da genomları oldukça büyüktür (Bennett ve Leitch, 2003). Çiçekli bitkilerde kromozom sayısı çok değişkendir ama genelde bu durum genom büyüklüğüyle ilgili değildir. Örneğin; haploid pirinç genomunda 440 Mb (milyon baz çifti) 12 kromozoma yayılmışken, haploid arpa genomunda 4900 Mb 7 kromozoma yayılmıştır. Sonuç olarak ortalama arpa kromozom büyüklüğü pirinç kromozom büyüklüğünün iki katıdır (Kellogg ve Bennetzen, 2004). Pek çok tohumlu bitkide kromozom sayısı ve büyüklüğü farklı olmasına rağmen kromozomlarında genel organizasyon benzerliği bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan genom dizileme çalışmalarının sonucunda bitki genlerinin oldukça sıkı kümелendiği görülmüştür. Bitki intronları genelde küçüktür ve ortalama 200 bp (baz çifti) meydana getirirler (Stam ve ark., 2002). Gen kümelerindeki gen yoğunluğu ortalama gen başına 5 kb (kilo baz), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. genomunda yaklaşık 4.5 kb (The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000)'dir. Çiçekli bitkilerde çok etkileyici bir şekilde genom büyüklüğü oranı vardır. Haploid çekirdekte bazı türlerde 50 Mb iken bazılarında 85.000 Mb civarındadır (Bennett ve Leitch, 2003). Bu farklılığın da kromozom sayısı artışından kaynaklandığı düşünülmektedir (Wendel, 2000).



Şekil 1.2. Nüklear DNA üzerinde ITS bölgesinin konumu (Bayer, R.J., 1996)

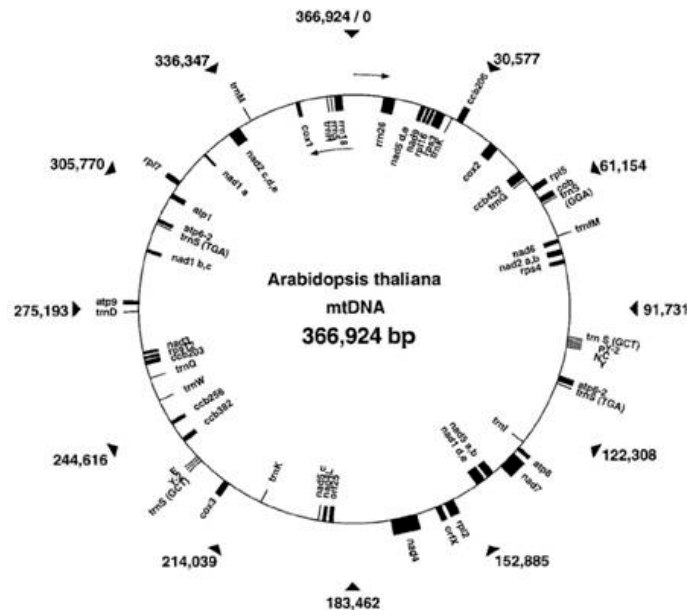
1.4.2. Mitokondrial DNA (mtDNA)

Mitokondriler, aerobik solunum yapan ökaryotik hücrelerde bulunur. Çift katlı zar ile çevrelenmiş olan mitokondrilerde; dış zar düz, iç zar ise kıvrımlı yapısı ile geniş bir yüzey oluşturmaktadır. Mitokondrilerin kendilerine has ribozomları, DNA ve RNA'ları bulunmaktadır. Bu da mitokondriyi bazı organellerden ayırır (Anonim, 2006). İç zar üzerinde oksijenli solunumun temel taşı olan elektron taşıma sistemi bulunur. Bitkiler

alemindeki mitokondrial genom, yapısı ve büyüklüğü bakımından çoğu ökaryottan daha fazla değişkenlik gösterir (Wolstenholme ve Fauron, 1995). Bitki mitokondri DNA'sı yaklaşık olarak %5 oranında protein kodlayan bölgelere sahiptir. Bu proteinlerin çoğu oksijenli solunumda görev alan solunum enzimlerinin alt birimi olarak görev yapar. Bu enzimler; sitokrom c-oksidad, sitokrom b-c, NADH dehidrojenaz ve ATP sentetaz'dır. Bitki mitokondri DNA'larının, diğer organizmaların mitokondri DNA'larından başlıca farkları şunlardır;

- Diğer organizmalardaki mitokondri DNA'lardan daha büyük ve komplekstir. En küçük Angiosperm mitokondri DNA'sı bile 200 kb'den daha büyüktür.
- Çok sayıda yabancı DNA dizileri bitki mitokondri genomunda bulunmaktadır. Örneğin; kloroplast DNA dizilerine rastlanılmaktadır.
- Kararsız ekstra kromozomal plazmidler genelde bitki mitokondri DNA'sında bulunur.
- Kısa serpilmiş tekrar dizileri bulunur ve nükleotid dizileri çok yavaş şekilde değişir (Soltis ve ark., 1992).

Genomu tamamen dizilenmiş bir bitki olan *Arabidopsis thaliana*'nın mitokondri DNA'sı 366.924 nükleotidden meydana gelmiştir, 57 adet gen kodlar ve bu mitokondri DNA'nın % 10'unu kapsar. İntron bölgeleri %8 civarındadır, 100 aminoasitten büyük olan açık okuma çerçeveleri (open reading frame) %10 civarındadır (Unselde ve ark., 1997).



Şekil 1.3. *Arabidopsis thaliana* bitkisine ait halkasal mitokondrial genom (Dobrowski ve ark., 1998)

1.4.3. Kloroplast DNA (cpDNA)

Son yıllarda moleküler biyoloji, bitki genetiği ve filogeni çalışmalarında yaygın olarak kullanılan diğer bir genom kaynağı da kloroplast DNA'sıdır. Kloroplastlar da tıpkı mitokondriler gibi kendi genetik sistemlerine sahip olan organellerdir (Türkan, 2007). Yapısal olarak prokaryot organizmaların genomuna benzer ve kendilerine ait ribozomları vardır. Organelde DNA replikasyonu yapıldıktan sonra, replike edilen DNA yeni oluşan oğul organelle aktarılır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

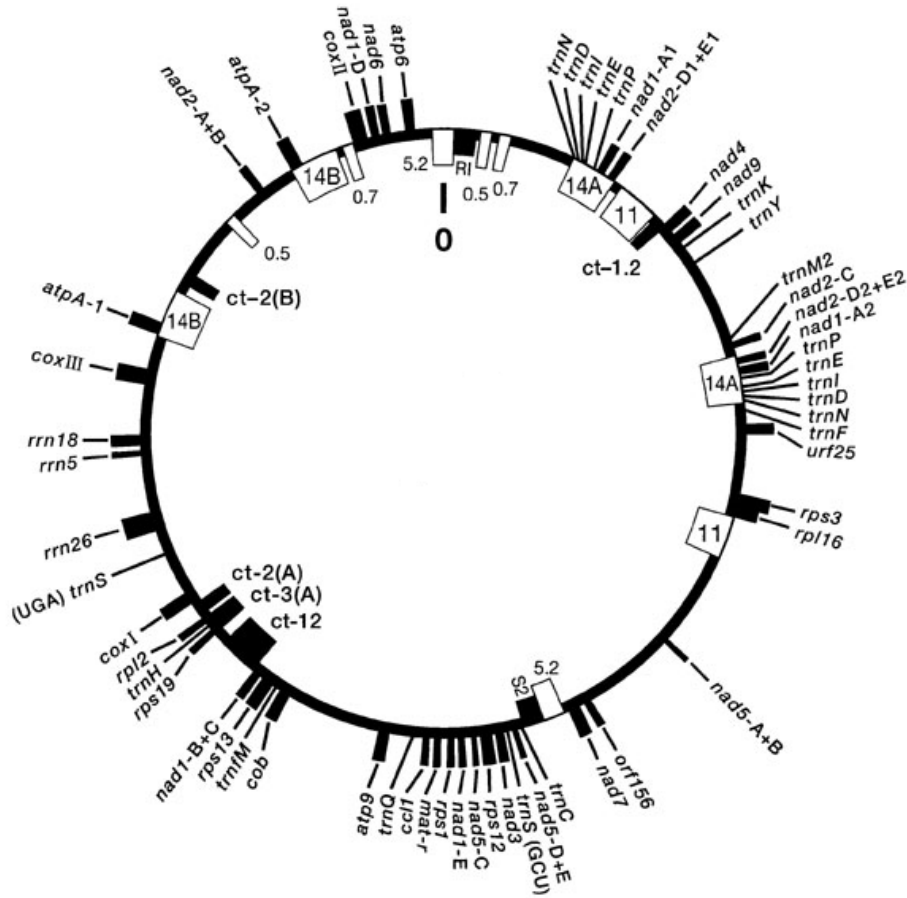
Kloroplast DNA'sı 1960'lı yıllarda çekirdek DNA'sından farklı özelliklere sahip bir molekül olarak ortaya çıkarılmıştır. Kloroplastlar halkasal bir DNA molekülüne sahip olup, 120-160 kb uzunluğunda yaklaşık 120 gen içermektedir. Bir kloroplast yaklaşık 4000 protein içerir ve bunlardan 100'ü kloroplast genomu tarafından, geri kalanı ise çekirdek genomu tarafından kodlanır (Türkan, 2007).

Aynı organizmanın nükleer DNA'sı ile kloroplast DNA'sı karşılaştırıldığında; birbirinden farklı baz kompozisyonu, yoğunluğu ve uzunluğuna sahip oldukları görülmektedir (Dilsiz, 2004). Kloroplast DNA'sı, nükleer DNA'ya göre çok daha düşük mutasyon oranına sahiptir. Kalıtım biçimi maternal kalıttır. Yani tek ebeveyn (anneden) gelen kalıtım şekli olmasından dolayı genetik çeşitlilik ve evrim çalışmalarında kullanılmaya oldukça uygundur. Kloroplast DNA'sının gen dizilimi ve genom boyutu çok iyi bir şekilde korunmuştur. Bu organel genomunun korunmuş olması pek çok bitkide kodlanmayan bölgeleri amplifiye etmek için kullanılan, evrensel primer çiftlerinin tasarlanmasına olanak sağlamıştır (Taberlet ve ark., 1991).

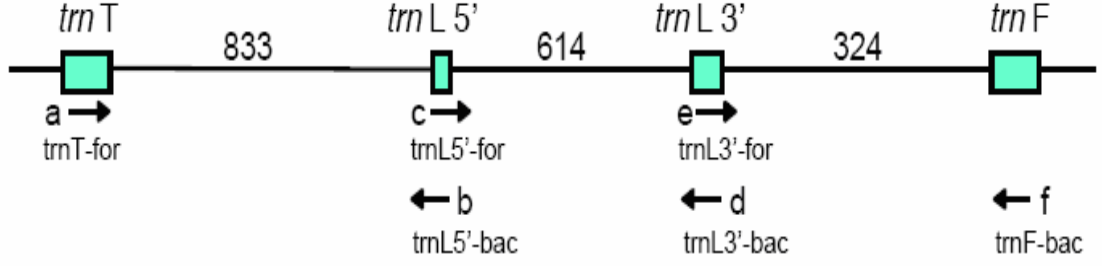
Kloroplast DNA'sının boyutu mitokondri DNA'sınıkinden daha büyüktür. Bu boyut farklılığı; kloroplastlarda mitokondrilere göre taşınan gen sayısının fazlalığı, genler arasında ve içinde oldukça uzun kodlama yapmayan nükleotit dizilerini taşıması ve DNA dizisinde duplikasyonlu bölgeleri içermesi ile açıklanabilir.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

Kloroplast DNA'sının kodladığı sayısız gen ürünü organel içindeki protein sentezi sürecinde işlev yapar. Düşük organizasyonlu Bryophyta (karayosunları) üyelerinden, yüksek organizasyonlu çiçekli bitkilere kadar çeşitli organizmaların kloroplast DNA'sı

birbirinden çok farklı sayıda gen ürünlerini kodlayabilmektedir. Genellemenin yapacak olursak, kloroplast DNA'sı üzerinde bulunan genler transkripsiyonda görevli olan RNA polimeraz enziminin alt ünitelerinin, translasyonda görevli olan tRNA'ların tümünün, kloroplast ribozomlarına özgün birçok ribozomal proteinin ve 4.5S, 5S, 16S ve 23S rRNA'ların (iki set halinde) şifrelenmesinden sorumludurlar. Diğer kloroplast genleri fotosentetik işleve özgüdür. Bunlardan bazıları fotosentezin aydınlık evre reaksiyonlarına birlik oluşturan protein kökenli hücresel bileşenleri kodlar. Söz konusu genlerdeki mutasyonlar fotosentezi inaktive edebilirler (Dilsiz, 2004). Kloroplast DNA'nın intronları ve genler arası kesim bölgeleri gibi kodlanmayan kısımları, kodlanan kısımlarına göre değişime daha yatkındır (Xu ve ark., 2000). Bu nedenle, bu kodlanmayan bölgelerin bilgi karakter potansiyelinin kodlanan bölgelere göre daha fazla olduğu ortaya konmuştur, bu nedendir ki onlar, taksonlar arası filogenetik çalışmalarda daha popüler bir yer alırlar (Downie ve ark., 2000).



Şekil 1.4. Kloroplast DNA'nın sirküler (halkasal) dublex yapısı ve bölgeleri (URL-2)



Şekil 1.5. Kloroplast DNA'nın *trn* T-F bölgesi (Taberlet ve ark., 1991)

1.5. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç Oluşturma

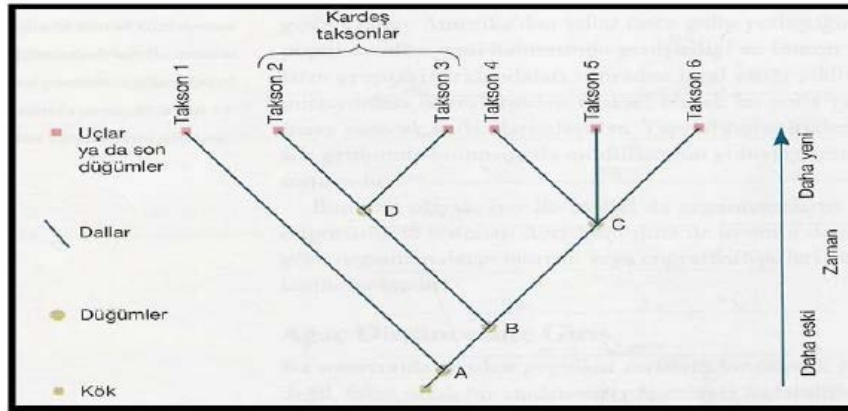
Taksonların köken tarihi filogeni olarak adlandırılır. Filogenetik analiz çeşitli türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilir. Moleküler filogenetik çalışmalar, DNA ve proteinlerde oluşan değişikliklerin hızını ve karakterini belirlemeye ve böylece genler ve taksonların köken tarihini incelemeye yöneliktir. Filogenetik veriler, türler arasında bulunan evrimsel bağı göstermede en uygun ve elverişli analizler ile filogenetik ağaca dönüştürülürler (Saitou ve İmanishi, 1989).

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 (Mount, 2001).

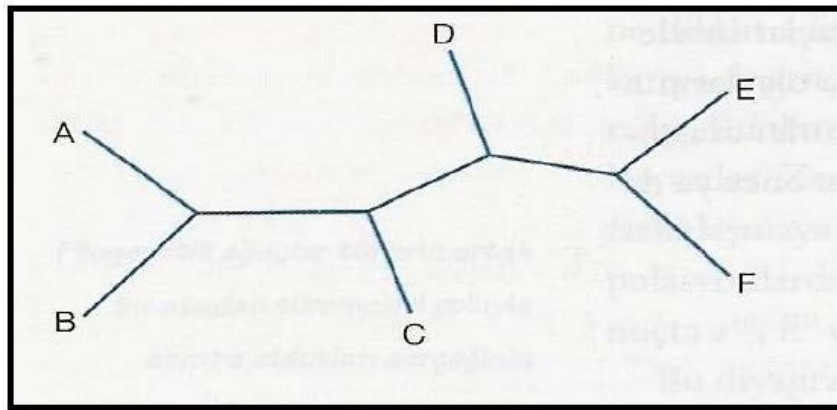
Moleküler filogenetik analiz, temel olarak dört basamakta gerçekleştirilir. Bu basamaklar:

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

Dizilerin hizalanması sonucu elde edilen hesaplanmış genetik uzaklık, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılmaktadır. Bu mesafeler sayesinde filogenetik ağaç oluşturulabilir (Saitou ve Nei, 1987). Bir filogenetik ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Ayrıca, türleşme sırasını ve taksonlar arasındaki akrabalığı belirtir. 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 ise türlerin önce ya da sonra açığa çıktığı ifade edilemez (Freeman ve Herran, 1999). Filogenetik ağaç oluşturulurken genellikle üç yöntem kullanılır. Bu yöntemlerden ikisi karakter temelli yöntemler olarak bir başlık altında toplanabilen Maksimum Parsimony ve Maksimum Likelihood yöntemleridir. Diğeri ise Uzaklık yöntemidir.



Şekil 1.6. Filogenetik Ağaç Çizimi (Freeman ve Herran, 1999).



Şekil 1.7. Köksüz Ağaç (Freeman ve Herran, 1999).

1.5.1. Maximum Parsimony: MP Yöntemi

Parsimony, bir gözlemin en az karmaşık olarak açıklanması şeklinde tanımlanır. İncelenen diziler ya da genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gerekli en az mutasyonların saptanmasına dayanan yöntemdir. Diğer bir ifadeyle, tutumluluk olarak tanımlanabilir. 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 söz konusu 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 (Freeman ve Herran, 1999).

1.5.2. Maximum Likelihood: ML Yöntemi

Joseph Felsenstein tarafından 1981 yılında MP’ye alternatif olarak ortaya konulmuş bir yöntemdir (Felsenstein, 1987). Araştırmacıya sunulan bütün bilgiyi 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 verilen belirlenmiş bir karakter modeli altında gözlenen verinin oluşturulması olasılığını hesaplar. Eğer ağaç doğruysa her dalın oluşturulma olasılıkları toplamı, gözlenen verinin oluşturulması olasılığını temsil eder. Bu olasılık ağaçların olasılığı olarak rapor edilir. Öyleyse, yarışan ağaç topolojilerinin kabul ya da reddi için kriter en yüksek olasılığı olan ağacı seçmektir. Maalesef, olasılık metotları hesaplamada yavaşlardır ve bu teknikle çok büyük veri setleri, daha hızlı parsimony metotları kullanılarak yapıldığı kadar, kapsamlı analiz edilemezler (Freeman ve Herran, 1999).

1.5.3. Uzaklık (Distance) Yöntemi

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 (Mount, 2001). Tercih edilen ağaç, taksonlar arasındaki mesafeyi en aza indirgeyen ağaçlardır (Freeman ve Herran, 1999).

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 (Kimura, 1980; Wakely, 1996).

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 (Sneath ve Sokal, 1973). 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 (Freeman ve Herran, 1999).

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

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

1.5.4. Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Programlar

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

1.6. Apiaceae Familyası İle İlgili Genel Bilgiler

Türkiye Florası (Davis, 1972)'na göre dikotiller içinde özellikle Apiaceae familyası cinslerinde problemler görülmektedir. Bu familya üyelerinin teşhis edilebilmeleri için özellikle taban yaprakları ve meyveleri gereklidir. Örnekler; tanımlamada kullanılacak karakterleri ile birlikte toplanamaz ise yanlış teşhis edilme olasılığı artar. Özellikle birçok cins üyelerinin çiçeklenme dönemi geç olduğundan meyveye de geç dönemde geçerler. Bu sebeple Apiaceae familyası üyeleri Türkiye'de ve Dünya'da en fazla probleme sahip bitkilerdir. Yabancı araştırmacılar tarafından bu familyanın alt tribusları ve cinsleri üzerinde revizyon ve monograf çalışmaları yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Alt tribus *Foeniculinae* Dumort. (Lavrova ve ark., 1987), *Bupleurum* L. (Pimenov ve Sdobnina, 1983), *Pastinaca* L. (Menemen ve Jury, 2001a), *Prangos* Lindl. (Herrnstadt ve Heynh, 1977), *Torilis* Adonson (Jury, 1988), *Tordylium* L. (Al-Eisawi ve Jury, 1988) revizyonu ve *Dorema* D. Don (Pimenov, 1988) monografisi yapılan cinslerden bazılarıdır (Doğan ve Güner, 2006).

Apiaceae familyası üyeleri genellikle otsu, tek, iki ya da çok yıllık, nadiren tabanda odunsu, çalimsı, ağaçımsı ya da ağaç formunda, genellikle gövdeli, nadiren gövdesiz gövdede internodlarda içi dolu ya da boş olan bitkilerdir. Yapraklar tabanda rozet şeklinde,

gövdede almalı ya da nadiren karşılıklı veya dairesel dizilmiş; yaprak ayası basit ya da bileşik, bazen peltattır, bileşik olduğunda pinnat, bipinnat ya da çok pinnat, bazen palmat, yaprak kenarları düz, parçalı ya da dikenli olabilir; stipul bulunmaz (subfam. Hydrocotyloideae üyeleri hariç); damarlanma pinnat, palmat ya da paraleldir. Yaprak sapları genellikle geniş ve tabanı kın (okrea) şeklindedir. Çiçek durumu genellikle basit umbel, bileşik umbel ya da nadiren kapitulum veya indirgenmiş simöz durumu şeklindedir. Umbelde ray tabanında brakteler vardır ve involukrum oluşturur ya da yoktur. Umbellüller birkaç ya da çok çiçekli, genellikle eş olmayan büyüklükteki pedisel tabanında brakteol vardır, nadiren bulunmaz. Bitkiler eşey bakımından genellikle hermafrodit, andromonoik, poligam ya da dioik olabilir. Kaliks genellikle indirgenmiştir, indirgenmemişse serbest ya da birleşik, sepal 5 ve küçüktür. Korolla 5 petalli, petaller serbest ve genellikle uç kısmında geriye kıvrık, beyaz, sarı, sarımsı-yeşil, açık mavi pembe, eflatun ya da mor renkte, eşit boyda ya da dıştakiler içtekilerden daha uzun; nadiren petalsızdır. Stamen 5 adet, perianttan bağımsız, sepallerle karşılıklı dizilişli, fertil ve tomurcukta içe dönüktür. Ovaryum alt durumlu, 2 lokuluslu ve her lokulusta 1 nadiren 2 anatrop ovulludur. Stilus, genellikle tabanı genişleyerek nektar salan stilopodyumu oluşturmuştur. Plasentasyon aksillar ya da apikaldır. Meyve kuru, olgunlukta açılmayan (1-) 2 adet merikarpa ayrılan şizokarptır. Her merikarp bir tohumludur ve genellikle karpofor adı verilen birer sapla birbirine bağlanır, karpofor nadiren yoktur. Merikarpların birbirine bakan tarafı (komissural taraf) konkav-sulkattır. Merikarplar çıplak veya tüylü, pullu, kılçıklı, veya dikenlidir. Merikarplar genellikle sırttan ya da yandan basık ya da teret, her merikarp birincil sırtlıdır (kosta), nadiren birincil sırtlarla almalı dizilişli ikincil sırt da bulunur. Sırtlar filiform, dalgalı veya genişçe kanatlı olabilir ve sırtlar arasında valekulum (girintiler) bulunur. Salgı kanalları ve yağ kanalları (vittae) genellikle vardır. Tohum endospermi yağ bakımından zengindir. (Heywood, 1978; Meikle, 1985; Pimenov ve Leonov, 2004; She ve ark., 2005; Doğan ve Güner, 2006; Ecevit, 2010). Polenlerinin yayılması ve tozlaşma (polinasyon) böcekler aracılığıyla gerçekleşir (entomofil) (Lawrence, 1989).

Apiaceae familyası kozmopolit bir familyadır. Dünyada çoğunlukla ılıman ve tropikal bölgelerde geniş bir yayılım alanına sahiptir (Heywood, 1978). Apiaceae familyası dünyada 446 cins ve 3540 tür ile temsil edilir (Simpson, 2006). Apiaceae familyası cinslerinin kıtalara göre dağılımı Asya'da 286, Avrupa'da 141, Afrika'da, 133, Kuzey Amerika'da 93, Orta Amerika'da 27, Güney Amerika'da 51 ve Avustralya'da 36'dır.

Dünyada en fazla türe sahip Apiaceae cinsi 250-260 tür ile *Eryngium* L.' dur. *Eryngium* cinsini 185-195 tür ile *Bupleurum* L., 180-185 tür ile *Ferula* L., 170-180 tür ile *Pimpinella* L., 125-140 tür ile *Seseli* L., 120-130 tür ile *Hydrocotyle* L., 120-125 tür ile *Heracleum* L., 110-115 tür ile *Angelica* L. ve 45-50 tür ile *Bunium* L. izlemektedir (Pimenov ve Leonov, 2004). Türkiye'nin de dahil olduğu Asya kıtasında ise *Ferula* 177, *Bupleurum* 155, *Pimpinella* 125, *Heracleum* 109, *Seseli* 80 tür ile temsil edilmektedir (Pimenov ve Leonov, 2004; Doğan ve Güner, 2006).

Apiaceae familyası üyeleri dünyada ekonomik öneme sahip bitki gruplarındandır. Özellikle besin kaynağı, sebze ve hayvan yemi olarak kullanılırlar. Park ve bahçelerde süs bitkisi ve yemeklere tat veren baharat olarak kullanılan türleri mevcuttur. İçerdikleri alkaloidler ve reçineler nedeniyle tıpta (özellikle bağırsak rahatsızlıkları) ve kozmetikte yaygın kullanım alanlarına sahiptirler (Doğan ve Güner, 2006).

Apiaceae familyası üyelerinde sistematik problemlere açıklık getirmek için birçok araştırmacı tarafından bu familyanın alt familyaları ve cinsleri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar;

-Sistematik (Pimenov, 1988; Pimenov, 1989; Hedge ve ark., 1971; Parkinson, 1987; Jury, 1996; Jury, 2000; Pimenov ve Kljuykov, 1980; Pimenov ve Kljuykov, 1995; Pimenov ve Kljuykov, 1992; Pimenov ve Kljuykov, 1997; Pimenov ve ark., 1995; Pimenov ve Kljuykov, 1999; Pimenov ve Kljuykov, 2001; Pimenov ve ark., 2000; Lavrova ve ark., 1987; Al-Eisawi ve Jury, 1988; Herrnstadt ve Heyn, 1971; Akalın, 1999; Ecevit, 2010),

-Karpolojik (Ostroumov ve Pimenov, 1997; Pimenov ve Ostroumova, 1994; Safina ve Pimenov, 1990; Menemen ve Jury, 2001b),

-Anatomik (Theobald, 1967a; Theobald, 1967b; Pimenov ve ark., 1986; Pimenov ve ark., 1982, Pimenov, 1974),

-Karyolojik (Constance ve ark., 1976; Bell ve Constance, 1957; Constance ve Bell, 1966; Corrias ve ark., 1984; Holub ve ark., 1972; Vasil'eva ve ark., 1985; Solov'eva ve ark., 1985; Vasil'eva ve Pimenov, 1991; Shner ve ark., 2011),

-Moleküler (Magee ve ark., 2008; Downie ve ark., 1998; Downie ve ark., 2002; Downie ve ark., 2000a; Zhou ve ark., 2009; Tilney ve ark., 2009; Downie ve ark., 2000b; Downie ve ark., 2010; Sun ve Downie, 2010; Downie ve Katz-Downie, 1996; Feng ve ark., 2009; Shneyer ve ark., 2003; Valiejo- Roman ve ark., 2002; Calvino ve Downie, 2007),

-Palinolojik (Erdtman, 1952; Punt, 1984; Cerceau-Larrival, 1956; Cerceau-Larrival, 1962; Cerceau-Larrival ve Roland- Heydacker, 1976; Cerceau-Larrival, 1971), çalışmalar şeklinde yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir.

Drude'nin yaptığı sınıflandırmaya göre Apiaceae familyası 3 alt familyaya ayrılır (Knees, 1989; Pimenov ve Leonov, 1993) :

1. Alt Familya: Hydrocotyloideae Link

Bu alt familya 42 cins ve 469–490 türe sahiptir. Yaprakları genellikle basit ve stipulalıdır. Çiçekler basit ve halka şeklindedir. Ovaryum az ya da çok düz disk şeklindedir. Meyvede endokarp odunsudur ve olgun meyvede salgı kanalı yoktur. Karpofor bulunmaz. Temel kromozom sayısı 8, 9, 11'dir. 2 tribusa ayrılır:

1. Tribus: Hydrocotyleae Spreng. (14 cins, 283–293)
2. Tribus: Molineae DC. (22 cins, 180–191)
3. Kesin olmayanlar (5 cins, 6 tür)

2. Alt Familya: Saniculoideae Burnett

Bu alt familya 9 cins ve 304–325 türe sahiptir. Yapraklar genellikle basit veya palmat loplulu ve stipulasızdır. Çiçekler basit veya kapitulum şeklindedir. Ovaryum az veya çok düz disk şeklindedir. Olgun meyvede salgı kanalları vardır. Karpofor bulunmaz. Temel kromozom sayısı 7 ve 8 dir. 2 tribusa ayrılır:

1. Tribus: Saniculeae W. D. J. Koch (6 cins, 300-321 tür)
2. Tribus: Lagoecieae Dumort. (2 cins, 2 tür)
3. Kesin olmayanlar (1 cins, 2 tür)

3. Alt Familya: Apioideae Drude

Bu alt familyada 404 cins ve 2827-2936 tür yer almaktadır. Yapraklar genellikle parçalı ve stipulasızdır. Çiçekler genellikle birleşik umbel şeklindedir. Çiçekte belirgin bir stilopodyum bulunur. Olgun meyvede salgı kanalları vardır. Karpofor bulunur. Temel kromozom sayısı 6, 7, 8, 9, 10, 11'dir. 11 tribusa ayrılır:

1. Tribus: Echinophoreae Bent. (6 cins, 38 tür)
2. Tribus: Scandiceae Spreng. (14 cins, 90-97 tür)
3. Tribus: Caucalideae Spreng. (6 cins, 28 tür)

4. Tribus: Smyrnieae Spreng. (52 cins, 331-339 tür)
5. Tribus: Apiaceae (189 cins, 1332-1400 tür)
6. Tribus: Angeliceae W.D.J. Koch. (12 cins, 176-177 tür)
7. Tribus: Peucedaneae Dumort. (23 cins, 161-165 tür)
8. Tribus: Tordylieae W.D.J. Koch. (6 cins, 28 tür)
9. Tribus: Laserpitieae Benth. (11 cins, 56 tür)
10. Tribus: Hohenackerieae Calest. (1 cins 2 tür)
11. Tribus: Pyramidoptereae Boiss. (1 cins, 1 tür)
12. Kesin olmayanlar (8 cins, 10 tür)

Bu çalışmanın konusu olan *Anthriscus* cinsi **Apioideae** alt familyası, **Scandiceae** tribusu içinde yer almaktadır.

1.7. Apiaceae Familyası Taksonlarının Filogenisi

Apiaceae familyası Apioideae alt ailesinin nrDNA ITS ve cpDNA rpoC1 intron dizileri kullanılarak yapılan filogenetik analizinde Downie ve arkadaşları (1998), Apioideae alt ailesine ait 126 ITS nükleotit dizisi, Apiaceae'nin 3 alt ailesine ait 100 rpoC1 intron nükleotit dizisi kullanmışlardır. Çalışma sonucu elde edilen ağaçlarda Apoideae alt ailesinin monofiletik olduğu ve bunu yanı sıra Saniculoideae alt ailesine kardeş grup olduğu belirlenmiştir. Apioideae alt ailesinin meyve morfolojisi ve anatomik karakterleri açısından oluşturulmuş eski sınıflandırma ile aralarında farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak filogenetik ağaçta Apioideae alt ailesinin 4 ana dalda yer aldığı ve bunun gelecekte yapılacak daha alt taksonomik kategorideki çalışmalar için önemli bir taban çalışma olduğu fikri ortaya çıkmıştır (Downie ve ark., 1998).

Lee ve Downie (1999), Apiaceae familyası Caucalideae oymağında bulunan taksonlarının ITS nükleotit dizi verilerini kullanarak moleküler filogenisini araştırmışlardır. Scandiceae, Smyrnieae, Laserpitieae ve Apieae oymaklarına ait örnekler üzerinde ITS dizi çalışmaları yapılmıştır. Toplamda 28 cins ve 58 takson kullanılan çalışma sonucunda elde edilen ağaçların benzer sonuç gösterdiği izlenmiştir. Filogenetik ağaçta ortaya çıkan 3 ana dal cins ayrımı şu şekildedir:

(1). Dal, *Agrocharis* Hochst., *Ammodaucus* Coss. ve Dur., *Artedia* L., *Cuminum* L., *Daucus* L., *Laserpitium* Mill., *Orlaya* Hoffm., *Polylophium* Boiss., *Pseudorlaya* Murb. ve *Pachyctenium* Coss. dalı

(2). Dal, *Astrodaucus* Drude, *Caucalis* L., *Chaetosciadium* Boiss., *Glochidotheca* Fenzl., *Lisaea* Boiss., *Szovitsia* Fisch. Et. Mey., *Torilis* Adans. ve *Turgenia* Hoffm. dalı

(3). Dal, *Anthriscus* Pers., *Kozlovia* Lipsky., *Myrrhis* Mill., *Osmorhiza* Raf. ve *Scandix* L. dalı.

Bu dallar ilk olarak *Daucus* L., *Torilis* Adans. ve *Scandix* L. alt dalları olarak çalışmada yer almıştır. Birinci alt dal, Drude'un Laserpitieae oymağı taksonlarını içermektedir. Üçüncü alt dal ise Heywood'un Scandiceae oymağı ile örtüşmektedir. Yapılan çalışmada kullanılan türler temel alındığında *Daucus* L., *Laserpitium* L. ve *Torilis* Adans. cinslerinin hiçbirinin monofiletik görünümde olmadığı tespit edilmiştir (Ertaş, 2013).

Yine başka bir çalışmada, Apiaceae familyası Scandiceae oymağının nrDNA ITS nükleotit dizisi verileri kullanılarak filogenisi araştırılmıştır. Toplamda 64 cins ve 119 türe ait temsilcilerden oluşan 134 örneğe ait nükleotit dizileri kullanılarak yapılan çalışmada, sonuç olarak Scandiceae oymağının *Anthriscus* L., (kısmen) *Athamanta* L., *Balansaea* L., *Chaerophyllum* Boiss., *Conopodium* Koch., *Geocaryum* L., *Kozlovia* Lipsky, *Myrrhis* Mill., *Neoconopodium* Koso-Pol., *Osmorhiza*, *Scandix*, *Sphallerocarpus* Aust. ve *Tinguarra* Parl. cinslerini kapsayan tek bir hat üzerinde toplandığı görülmüştür. *Athamanta* cinsinin polifiletik görünümde olduğu, ayrıca *Athamanta della-cellae* Asch. & Barneby ex E.A.Durand & Barratte türünün *Daucus* cinsi ile, *Athamanta macedonica* (L.) Spreng. türü de *Pimpinella* L. cinsi ile çok yakın konumlanmış olduğu gözlenmiştir. Diğer bir sonuç ise *Rhabdosciadium* Boiss. ve *Grammosciadium* DC. cinslerinin *Aegopodium* L. cinsi ile yakından ilişkili olduğu sonucudur. Monotipik cins *Molopospermum* L. örneğinin çok yüksek dizi farklılığı nedeniyle yeri belirlenemediği tespit edilmiştir (Downie ve ark., 2000a; Ertaş, 2013).

Apiaceae familyası üzerine birçok çalışması bulunan Downie ve arkadaşları (2004), tarafından *Perideridia* Rchb. cinsi üzerinde nükleer ribozomal DNA ITS nükleotit dizileri kullanılarak yapılan çalışmada; 14 türe ait 84 bireyin analizi için maksimum tutarlılık (parsimony), maksimum olasılık (likelihood) ve Bayesian gibi filogenetik metotları kullanılmıştır. *Perideridia neurophylla* Maxim. türünün ITS nükleotit dizisi, çalışmada kullanılan diğer 83 bireyden oldukça farklı çıkmıştır. Sonuçta bu türün *Perideridia* cinsi

içerisinde olmadığı düşünülerek filogenetik analizde değerlendirmeye alınmamıştır. Değerlendirmeye alınan 83 birey ve 5 dış grubun ITS nükleotit dizi uzunluğu 599 ile 603 bp arasında değişmektedir. Filogenetik analizler sonucunda oluşturulan ağaçlardan *Perideridia* cinsinin monofiletik olduğu ve özellikle kuzey Amerika’da yayılış gösterdiği, orta batı Amerika’da yetişen *Perideridia americana* Reichb. türünün diğer bütün türlere olasılıkla kardeş olduğu ve iki tür haricinde tüm taksonların monofiletik olduğu tespit edilmiştir (Downie ve ark., 2004).

Neves ve Watson (2004), tarafından *Bupleurum* L. cinsinin (Apiaceae) ribozomal DNA ITS dizileri kullanılarak filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmada *Bupleurum* cinsine ait 32 türün (35 takson) ITS nükleotit dizileri belirlenmiştir. Elde edilen ağaçlar sonucunda *Bupleurum* cinsinin monofiletik görünümde olduğu ve iki ana dala ayrıldığı görülmüştür. Birinci dal üzerindeki bütün türlerin pinnat-retikülat damarlı yaprağa sahip olduğu, ikinci dal üzerindeki türlerin ise paralel damarlı yapraklarının bulunduğu anlaşılmıştır (Neves ve Watson, 2004). Yine Spalik ve ark., (2004), *Peucedanum* L.’un filogenetik pozisyonu ve onların Selineae oymağı içinde yerleşimi ile ilgili bir araştırma yapmışlardır (Spalik ve ark., 2004).

Cicuta L. cinsi üzerinde yapılan bir başka araştırmada rDNA ITS ve cpDNA ve *trnK* 5’ exon nükleotit dizi verilerini kullanarak cinsin filogenisi çalışılmıştır. Çalışmada *Cicuta* cinsine ait 4 türün bireyleri ile dış grup olarak *Oenanthe* L. cinsine ait taksonlar kullanılmıştır. Filogenetik analiz sonucu oluşturulan ağaçlardan *Cicuta bulbifera* L. ve *Cicuta virosa* L. türlerinin monofiletik olduğu, *C. virosa*’nın diğer bütün türlere kardeş grup olduğu sonucuna varılmıştır (Lee ve Downie, 2006).

Yang ve arkadaşları (2007), Kuzeybatı Çin’den *Bupleurum* cinsi türlerinin filogenetik ilişkilerini araştırmışlardır. Ayrıca moleküler veriler Mikronezya endemiği olan *B. salicifolium* türünün neoendemik olduğunu ortaya koymaktadır. Yine endemik kuzey batı Afrika taksonları tek bir dal üzerinde toplanmıştır, aralarında ITS nükleotit dizisi açısından çok az farklılık bulunması da bu grubun yakın zamanda yayılım gösterdiğini düşündürmektedir. Öte yandan, Hengduan adalarında *Bupleurum* (Apiaceae) cinsinin kromozom sayımları ve nrDNA ITS sekanslarına bağlı olarak yapılan çalışmada, bu adaların, Çin’de Apiaceae’nin *Bupleurum* cinsi için çeşitlilik merkezi olduğunu belirtmişlerdir (Wang ve ark., 2008) .

1.8. Türkiye’de Apiaceae Familyası

Ülkemizde Apiaceae familyasından 109 cinse ait 450 tür doğal olarak yayılış göstermektedir. Bunların içinde 4 cins hem monotipik hem de endemik ve 42 cinse ait toplam 140 tür endemiktir. Endemizm oranı % 31’dir. Monotipik endemik cinsler “Türkiye Florası” Davis (1972) adlı eserde *Ekimia* H. Duman ve M. F. Watson, *Crenosciadium* Boiss., *Olymposciadium* Wolff ve *Microsciadium* Boiss. olarak verilmiştir. Apiaceae familyası ile ilgili yapılan daha sonraki çalışmalarda monotipik ve endemik olan *Olymposciadium* cinsi, *Aegokeras* Raf. cinsinin sinonimi olarak değiştirilmiştir. (Pimenov ve Leonov, 2004; Ecevit, 2010). *Scaligera capillifolia* türünün statüsü ise cins kategorisine yükseltilmiş ve *Postiella kljuykov* Post ex. Boiss. olarak isimlendirilmiştir (Pimenov ve Leonov, 2004). Böylece ülkemizde doğal yayılış gösteren endemik cinslerin sayısı 5’e yükselmiştir.

Apiaceae familyasının Türkiye’deki yayılışı heterojendir ve özellikle ülkemizin Güneybatı ve Doğu Anadolu bölgelerinde daha bol bulunmaktadır (Pimenov ve Leonov, 1993). Türkiye’de Apiaceae familyasına ait en fazla tür içeren cinsler *Bupleurum* L. 47 tür (21’i endemik), *Ferulago* W. Koch 31 tür (17’si endemik), *Eryngium* L. 24 tür (11’i endemik), *Pimpinella* L. 23 tür (3’ü endemik), *Ferula* L. 17 tür (8’i endemik), *Tordylium* L. 17 tür (9’u endemik), *Heracleum* L. 17 tür (7’si endemik), *Chaerophyllum* L. 16 tür (5’i endemik) cinsleridir (Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000; Ecevit, 2010).

1.9. *Anthriscus* Pers. Cinsi

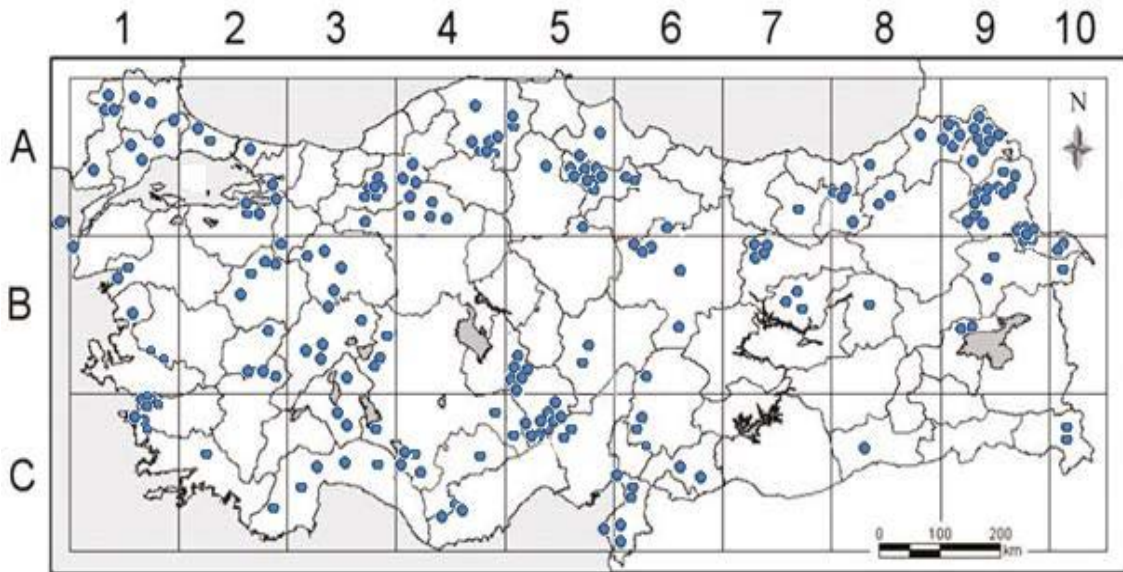
Anthriscus Pers. cinsi Dünya’da, Avrupa (Güney Batı, Güney, Güney Doğu, Doğu)’dan, Asya (Güney Batı, Orta merkez, Kafkasya), Afrika (Doğu), Kuzey Amerika, Japonya ve Kamitokondrichatka’nın doğusuna ve deniz seviyesinden 4100 m yüksekliğe kadar farklı coğrafya ve yükseltilerde yayılış göstermektedir. *Anthriscus* cinsi taksonlarının çeşitlilik merkezi ise tüm türlerin ve birçok alt taksonun yetiştiği, Güney Avrupa ve Doğu Akdeniz’dir.

Dünya’da *Anthriscus* cinsi için yaklaşık olarak 80 kadar özel isim tanımlanmış olduğu halde, genel olarak kabul edilen tür sayısı 14’dür (Spalik, 1997). Pimenov ve Leonov (1993)’a göre ise cinsin Dünya’daki tür sayısı 10-12 kadardır. Türkiye Florası (Davis, 1972)’na göre; *Anthriscus* cinsi *A. caucalis* M.-Bieb., *A. tenerrima* Boiss. ve Spruner, *A. cerefolium* (L.) Hoffm., *A. kotschy* Boiss. ve Balansa, *A. ruprechtii* Boiss., *A.*

lamprocarpa Boiss., *A. sylvestris* (L.) Hoffm., *A. nemorosa* (M. Bieb.) Spreng olmak üzere ülkemizde 8 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerden *A. ruprechtii* Boiss. yapılan revizyon araştırmalarında ısrarlı aramalara rağmen ülkemizde bulunamamıştır. “Revision of *Anthriscus*” (Spalik, 1997) çalışmasında ise cinsin ülkemizde 7 tür ve 10 taksonla temsil edildiği belirtilmiştir. *Anthriscus* cinsinin, Spalik, (1997) çalışmasında belirtilen lokaliteleri ve literatür kayıtları dikkate alınarak hazırlanmış dünya üzerindeki dağılımı Şekil 1.8’de görülmektedir. Ayrıca cinsin Türkiye’deki yayılışı da Şekil 1.9’da verilmiştir.



Şekil 1.8. *Anthriscus* cinsi taksonlarının dünya üzerindeki yayılışı (Tekin ve Civelek, 2013)



Şekil 1.9. *Anthriscus* cinsi taksonlarının Türkiye’deki yayılışı (Tekin ve Civelek, 2013)

Tekin ve Civelek (2013)'e göre ise Türkiye'deki *Anthriscus* cinsinin seksiyon, tür ve türaltı seviyelerindeki taksonları aşağıdaki şekildedir;

Seksiyon *Anthriscus* (Fabr.) Neilreich;

A. caucalis M.-Bieb var. *caucalis*

A. tenerrima Boiss. & Spruner var. *tenerrima*

A. cerefolium (L.) Hoffm. var. *trichocarpa* Neilr.

Seksiyon *Caroides* Boiss.;

A. kotschy Boiss. & Balansa

Seksiyon *Cacosciadium* (Rchb.) Neilr.;

A. lamprocarpa Boiss. subsp. *lamprocarpa*

A. lamprocarpa Boiss. subsp. *chelikii* Tekin & Civelek

A. sylvestris (L.) Hoffm. subsp. *sylvestris*

A. sylvestris (L.) Hoffm. subsp. *nemorosa* (M.-Bieb.) Koso-Pol.

Günümüze kadar *Anthriscus* cinsinin taksonomisi ile ilgili birçok araştırmacı çalışma yapmıştır. Antik Çağ'dan bu yana en yaygın bilinen *Anthriscus* türü *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm.'dur. *A. cerefolium* "Frenk maydanozu" olarak bilinmekte ve o dönemden bu yana kültürü yapılmaktadır (Rostafiński, 1885; Spalik, 1997). Linnaeus (1753) 3 *Anthriscus* türünü iki cins içinde vermiştir: *Chaerophyllum* L. (*Chaerophyllum sylvestre* L. = *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.); *Scandix* L. (*Scandix anthriscus* = *Anthriscus caucalis* M.-Bieb. ve *Scandix cerefolium* L. = *A. cerefolium*). Linnaeus'un *Chaerophyllum sylvestre* olarak isimlendirdiği tür aslında *Anthriscus sylvestris* ve *Chaerophyllum aureum* L. türlerini içermekteydi. Mevcut sintipler ve betimdeki tanımlamalar her iki taksonu da ifade etmekteydi (Spalik ve Jarvis, 1989; Reduron ve Spalik, 1995; Spalik, 1997). Linnaeus hatasını anlayarak "Flora Suecica" (1755) adlı eserinde *C. aureum*'u daha önce *C. sylvestre* olarak isimlendirdiği türden ayırmıştır (Spalik, 1997).

Linnaeus, ayrıca cins ismi olan *Anthriscus*'u iki türün epiteti olarak da kullanmıştır (*Scandix anthriscus* ve *Tordylium anthriscus* L. [*Torilis japonica* (Houtt.) DC.]). Bu durum adı geçen iki türün yeni cinsin tipi olarak belirlenmesine ve *Anthriscus*'un cins ismi olarak iadesine kadar birçok karışıklığa neden olmuştur (Spalik, 1997).

Persoon (1805) *Scandix anthriscus* üzerinden adlandırdığı *A. vulgaris* Pers. (= *A. caucalis* M.-Bieb.), cinsin ilk isimlendirilen türü olduğundan aynı zamanda cinsin tip

türüdür. Sprengel (1813), *Anthriscus nemorosa* M. Bieb. ($\equiv$ *Chaerophyllum nemorosum* M. Bieb.) ve *Anthriscus fumaroides* ($\equiv$ *Scandix fumaroides* Waldst. ve Kit.) türlerini cinsine dahil etmiştir. Daha sonra Hoffmann (1814) iki Linnaean türü olan *Anthriscus sylvestris* ve *Anthriscus cerefolium*'u *Anthriscus* cinsine transfer etmiştir. Hazslinszky (1864), orijinal olarak Wahlenberg (1814) tarafından *Chaerophyllum* türü olarak tanımlanan *Chaerophyllum nitidum* Wahlenb.'u, *Anthriscus* cinsine *Anthriscus nitida* (Wahlenb.) Hazel olarak eklemiştir. Reichenbach (1832) çok yıllık olan taksonları Sect. *Cacosciadium* Rchb. Adı altında *Chaerophyllum* cinsine yeniden transfer etmiştir. Daha sonra *Cacosciadium* seksiyonu *Anthriscus* cinsine Neilreich (1859) tarafından alınmış, bu zamana dek bilinen tek yıllıklar ise sect. *Anthriscus*'tan alınarak sect. *Cerefolium* (Fabr.) Neilr. diye isimlendirilen yeni bir seksiyona dahil edilmiştir (Spalik, 1997).

Anthriscus cinsinin taksonomisine en büyük katkıyı 4 türü (*Anthriscus lamprocarpa* Boiss., *Anthriscus tenerima* Boiss. & Spruner., *Anthriscus kotschy* Boiss. & Balansa. ve *Anthriscus ruphrechtii* Boiss.) tanımlayan Boissier (1844, 1856) yapmış ve *A. kotschy* ve *A. ruphrechtii*'yi sect. *Caroides* Boiss. adı altında gruplamıştır. *Anthriscus schmalhauseni* (Albov) Koso-Pol., gibi Kafkas'lara endemik olan ve ülkemizde doğal yayılış göstermeyen birkaç takson da daha sonra tanımlanmıştır. Koso- Poliansky (1920) *Torilis* Adans. Cinsi ve dikenli meyveli türlere sahip diğer cinslerden birkaç türü *Anthriscus* cinsine dahil etmiştir, ancak, bu düzenleme kabul görmemekte ve genellikle reddedilmektedir (Spalik, 1997).

Anthriscus cinsinde özellikle *Cacosciadium* seksiyonunun değerlendirilmesinde farklılıklar görülmektedir. Örneğin; Thellung (1926) *Cacosciadium* seksiyonunu illegal cins ismi olan *Chaerofolium* Haller. cinsine ait *Chaerofolium sylvestre* (L.) Schinz & Thell. türü adı altındaki 2 alttürü (*Chaerofolium sylvestre* (L.) Schinz & Thell. subsp. *sylvestre*, *Chaerofolium sylvestre* (L.) Schinz & Thell. subsp. *alpestris* (Wimm.et Graeb.) Schinz & Thell. ve *Chaerofolium nemorosum* (M. Bieb.) Bornm. ile *Cerefolium sylvestre* (L.) Besser subsp. *fumarioides* (Waldst. et Kit.) Thell. taksonlarını *Anthriscus sylvestris* türüne dört alttür yapmıştır.

Schischkin (1950) ‘‘Flora of the Soviet Union’’ için yaptığı revizyon çalışmasında; çok dar bir tür kavramı benimsemiş ve *Cerefolium* (Fabr.) Neilr. seksiyonuna ait 6 tür kabul etmiştir. Schischkin, *A. cerefolium*'un varyetesi olarak kabul edilen *Anthriscus longirostris* Bertol. taksonunu da yeniden ortaya çıkarmıştır. Cannon (1968), Davis (1972)

ve Hedge & Lamond (1987), *A. sylvestris* türü içinde gruplanan ve önemli olduğu belirtilen türaltı taksonların durumunu korumuşlardır (Spalik, 1997).

1.10. Çalışmanın Amacı

-Bu çalışmada, *Anthriscus* Pers. (Apiaceae) cinsine ait Türkiye’de yayılış gösteren 8 tür ve türaltı takson arasındaki filogenetik ilişkilerin moleküler teknikler kullanarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca;

-Tekin ve Civelek (2013) tarafından yapılmış olan revizyon çalışması daha çok morfolojik ve anatomik verilere dayandırıldığından, sözkonusu revizyon çalışması ile varılan sonuçların moleküler yöntemlerle de test edilmesine ihtiyaç duyulması, cinsin sistematik – filogenetik problemlerinin en doğru ve kesin çözümü için moleküler veriler sağlanması ve elde edilecek bu moleküler veriler ışığında yeni sistematik düzenlemelerin nasıl olması gerektiğinin kesin olarak ortaya konulması,

- Türkiye’deki *Anthriscus* cinsi taksonlarının dikey gen transferi yollarından biri olan hibritleşme ile aralarında gen akışı sağlayıp sağlamadıklarının ve türleşmelerini tamamlayıp tamamlamadıklarının saptanması,

- Türkiye’deki *Anthriscus* cinsine ait her taksonun farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliklerin bireyler temelinde belirlenmesi,

- Elde edilen moleküler verilerle, çeşitli filogenetik analiz yöntemleri kullanılarak çalışma materyali olan *Anthriscus* cinsinin taksonlarına (46 birey) ait çalışılan toplam 48 birey (2 birey dış grup) için bir filogenetik ağaç (kladogram) hazırlanması ve bu sayede taksonların birbirine olan genetik yakınlığı veya uzaklığı hakkında daha güvenilir yorum yapılabilmesi,

-Taksonlar arası akrabalık ve sistematik ilişkilerin belirlenmesi ve 2023’te yeniden yazılması planlanan Resimli Türkiye Florası’na moleküler veriler sağlamak suretiyle katkıda bulunulması,

- Cinse ait taksonların ülkemiz populasyonlarıyla ilgili yeni *trnL-F* haplotipleri genbank veri bankasına kazandırılması ve Apiaceae familyası taksonları üzerine yapılacak yeni bilimsel moleküler araştırmalarda kullanılabilmesi için özgün bilgilerin elde edilmesi de amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu kısım kendi içerisinde belirli aşamaları kapsamaktadır. Bu aşamaları şöyle sıralayabiliriz;

- Bitki örneklerinin temini
- Yapraktan DNA izolasyonu
- PCR çalışmaları
- PCR ürünlerinin gözlenmesi
- DNA dizi analizi (Sekans İşlemi)
- Verilerin değerlendirilmesi

2.1. Çalışılan Bitki Örneklerinin Temini

Bu çalışmada, Türkiye’de yetişen *Anthriscus* Pers. cinsinin tür ve türaltı seviyelerindeki sekiz taksonuna ait örnekler kullanıldı. Bu bitkiler 2010-2012 yıllarının Nisan-Eylül ayları arasında vejetatif ve çiçekli dönemlerinde doğal habitatlarından TEKİN tarafından toplanmış, preslenmiş ve herbaryum materyali haline getirilmiş şekilde Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu (CUFH)’da korunmaktadır.

Çalışma kapsamında, Türkiye’nin 29 farklı bölgesindeki populasyonlardan toplanmış olan *Anthriscus* cinsinin tür ve türaltı seviyelerindeki taksonlarına ait 46 farklı birey ile dış grup olarak kullanılan *Chaerophyllum* L. cinsine ait *Chaerophyllum astrantia* Boiss. & Balansa ex Boiss. ile *Chaerophyllum temulum* L. türlerine ait birer (toplam 2) bireyin toplandığı lokaliteler Tablo 2.1.de verilmektedir. İncelenen *Anthriscus* cinsi taksonlarına ait örneklerin lokaliteleri harita üzerinde Şekil 2.1. de ayrıca verilmektedir. Taksonların her biri için populasyonun genişliğine bağlı olarak sayıları 3-5-8 arasında değişik gösteren birey kullanıldı. Ayrıca *Anthriscus rupretchi* türü Türkiye Florası’nda ve Spalik (1997) çalışmasında ülkemiz sınırlarında bulunduğu söylenmesine rağmen, Tekin ve Civelek (2013) tarafından ülkemizde yapılmış olan revizyon çalışması kapsamında ülkemiz sınırları içerisinde yetiştiği söylenen lokalitelerde bulunamadığından ve bizim çalıştığımız DNA bölgesi de daha önce çalışılmış olmadığından, analizlerimize dahil edilme imkanı bulunamamıştır.

Tablo 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan taksonların lokalite ve diğer etiket bilgileri

Tür	Toplayıcı No ve Toplayıcı	Toplanma Tarihi	Toplandığı Yer
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1090, M. Tekin	26.05.2011	B5 , Aksaray: İhlara, Belisırma köyünden İhlara Vadisi, Menendiz çayı kenarı, 1184 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1113, M. Tekin	22.06.2011	A3 , Bolu: Gerede-Kızılcahamam yolu, Külef köyü içi ve etrafı, 1373 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1098, M. Tekin	30.05.2011	B7 , Erzincan: Refahiye-Çatköy camii yakını, 1211 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1196, M. Tekin	18.05.2012	A2 , Kocaeli: Karamürsel-İznik arası, Kızderbent köyü bahçe içi, 210 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1087, M. Tekin	23.05.2011	A3 , Eskişehir: Yazılıkaya köyü kütüphanesi etrafı, 1320 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1085, M. Tekin	23.05.2011	A3 , Eskişehir: Çifteler-Han arası, Çifteler çıkışı yol kenarı, 866 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1083, M. Tekin	23.05.2011	B3 , Afyonkarahisar: Sandıklı-Şuhut arası, Şuhut ilçe girişi, 1153 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1077, M. Tekin	20.05.2011	A1 , Tekirdağ: Malkara-Çerkezköy arası, Çerkezköy girişi, 168 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1080, M. Tekin	23.05.2011	B3 , Isparta: Gelendost, Yenice köyü içi, 937 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1197, M. Tekin	18.05.2012	A2 , Bursa: Karamürsel-İznik yolu, Derbent köyü 311 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1084, M. Tekin	23.05.2011	B3 , Afyonkarahisar: Sandıklı-Şuhut arası, dağ yolu, Sandıklı çıkışı, 1. km, 1130 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1198, M. Tekin	19.05.2012	B2 , Kütahya: Emet, Köprücek köyü içi, 1045 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1206, M. Tekin	22.05.2012	C4 , Karaman: Ermenek, Yeşilköy köyü içi, 898 m.
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	1078, M. Tekin	21.05.2011	A1 , Edirne: Hasköy-Edirne arası, Edirne sapağı öncesi yol ve tarla kenarı, 50 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1082, M. Tekin	24.05.2011	C4 , Konya: Seydişehir, Çatmakaya köyü girişi, taşlık gölgelik yerler, 1127 m.

Tablo 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan taksonların lokalite ve diğer etiket bilgileri (Devamı)

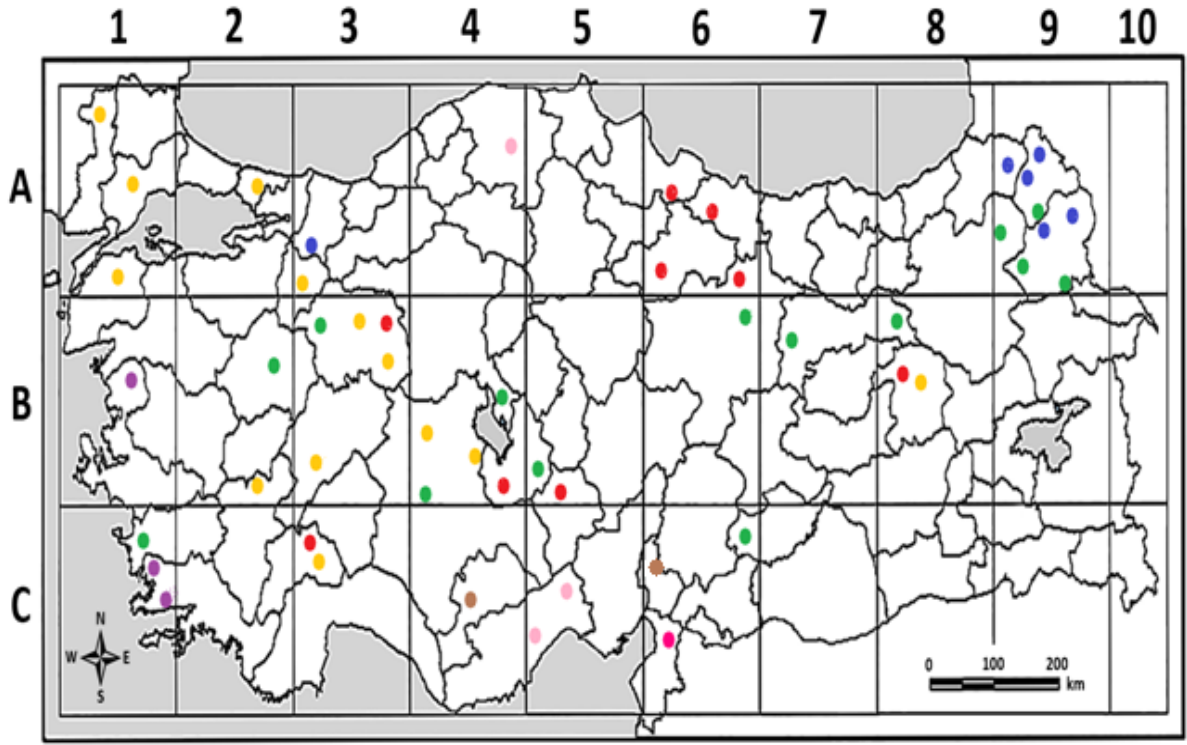
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1089, M. Tekin	26.05.2011	B5 , Aksaray: Ihlara, Belisırma köyünden Ihlara Vadisi, Menendiz çayı kenarı, 1184 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1096, M. Tekin	30.05.2011	B7 , Erzincan: Refahiye, Aşağı Sötlüce köyü girişi, tarla kenarı, çitle çevrili yerler, 1265m
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1074, M. Tekin	16.05.2011	A5 , Amasya: Kuzgeçe köyü, köy içi ve yakını, 404 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1105, M. Tekin	20.06.2011	A5 , Amasya: Kuzgeçe köyü, köy içi ve yakını, 404 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1086, M. Tekin	23.05.2011	A3 , Eskişehir: Yazılıkaya köyü, köy kütüphanesi etrafı, 1320 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1075, M. Tekin	16.05.2011	A5 , Amasya: Kuzgeçe köyü, orman içi ve yol kenarı, 726 m.
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1204, M. Tekin	21.05.2012	B3 , Isparta: Eğridir-Aksu yolu 3. km yol kenarı, kayalık meşelik altı, 972m
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	1192, M. Tekin	16.05.2012	A5 , Amasya: Kuzgeçe köyü, orman içi ve yol kenarı, 726 m.
<i>A. kotschy</i>	1164, M. Tekin	28.07.2011	C5 , Niğde: Maden köyünden Bolkar Dağları, Karagölün etrafındaki kayalık yamaçların gölgeli kısımları, 2584 m.
<i>A. kotschy</i>	1163, M. Tekin	27.07.2011	C5 , Niğde: Çamardı, Demirkazık köyü, Arpalık mevkiinden boğaz boyunca, zirveye doğru, 2666 m.
<i>A. kotschy</i>	1161, M. Tekin	25.07.2011	A4 , Kastamonu: Tosya, Yukarı Berçin köyü, Ilgaz Dağı, Büyük Hacettepe'nin kuzey tarafı, 2430 m.
<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	1095, M. Tekin	22.05.2011	C1 , Aydın: Söke, Yuvaca köyü, Boynak mahallesinden Samsun Dağı, 759 m.
<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	1069, M. Tekin	27.04.2011	C1 , Aydın: Söke, Yuvaca köyü, Boynak mahallesinden Samsun Dağı, 759 m.
<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	1200, M. Tekin	20.05.2012	B1 , Manisa: Spil dağı yolu, derin su yolu kenarı nemli gölgeli kayalıklar, 670 m.

Tablo 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan taksonların lokalite ve diğer etiket bilgileri (Devamı)

<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	1218, M. Tekin	24.05.2012	C6 , Hatay: Hatay-Yayladağ yolu, Şenköy'ü 2-3 km geçince <i>Quercus</i> makiliği içi, 958 m.
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	1224, M. Tekin	25.05.2012	C6 , Osmaniye: Düziçi ilçesinden, Düziçi yaylası yolu, 1265 m.
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	1212, M. Tekin	25.05.2011	C4 , Karaman: Mut-Ermenek arası, 38. km'den sağa, dağ yolundan Adras Dağı, 1158 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1126, M. Tekin	30.06.2011	A9 , Iğdır: Tuzluca, Karacaören köyü girişi, 2008 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1129, M. Tekin	30.06.2011	A9 , Kars: Sarıkamış, Otelcilik ve Turizm Meslek Lisesi önü ve karşısındaki askeri lojman yakınları, 2108 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1143, M. Tekin	02.07.2011	A9 , Artvin: Şavşat, Alabalık-Şahanoka köyleri arası dere kenarı, 1078 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1156, M. Tekin	07.07.2011	A9 , Ardahan: Hanak, 1849 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1115, M. Tekin	22.06.2011	A4 , Bolu: Gerede-Kızılcahamam yolu, Külef köyü yukarısı, meşelik içi alanlar, 1379 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1136, M. Tekin	30.06.2011	A9 , Iğdır: Tuzluca, Ünlendi köyüne 4 km kala yol ve dere arası, 1919 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	1130, M. Tekin	30.06.2011	A9 , Kars: Sarıkamış, Soğuksu mevki, 2114 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1227, M. Tekin	27.05.2012	B6 , Sivas: Karayün köyü içi dere kenarı, 1447 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1142, M. Tekin	04.07.2011	A9 , Artvin: Ortaköy, Ortaköy Yaylasından Karçal Dağı, 2380 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1140, M. Tekin	03.07.2011	A9 , Artvin: Şavşat, Papart Yaylasından Mısırlı köyü yolu, köy girişi, 1435 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1099, M. Tekin	30.05.2011	B7 , Erzincan: Refahiye-İmranlı arası, Gemecik köyü yakını, 1865 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1157, M. Tekin	07.07.2011	A9 , Ardahan: Hanak, 1849 m.

Tablo 2.1. Çalışma kapsamında kullanılan taksonların lokalite ve diğer etiket bilgileri (Devamı)

<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1166, M. Tekin	08.08.2011	A9 , Artvin: Cancir yaylası-Şahanoka köyleri arası, 1556 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1015, M. Tekin	31.07.2010	A8 , Bayburt: Bayburt-Aşkale arası, Aşağı Kop Köyü üzeri, alpinik çayırılık alan, 2375 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1226, M. Tekin	19.05.2012	B2 , Bilecik: Tahtaköprü-Domaniç arası, 1251 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1195, M. Tekin	17.05.2012	A4 , Ankara: Beypazarı-Nallıhan yolu, Soğukkuyu köyü'nden Sarıçalı Dağı, Soğukkuyu şelalesi yolu, 1130 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1205, M. Tekin	21.05.2012	C4 , Konya: Hadım-Taşkent arası, Hadım çıkışı, 1481 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1223, M. Tekin	25.05.2012	B6 , Kahramanmaraş: Göksun, Koççağız köyü, alpinik çayır, 1722 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1106, M. Tekin	20.06.2011	A5 , Amasya: Amasya-Suluova arası, Ormanözü köyü mezarlığı, 1233 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1202, M. Tekin	20.05.2012	C1 , Aydın: Söke, Yuvaca köyü, Boynak mahallesinden Samsun Dağı, 757 m.
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	1199, M. Tekin	19.05.2012	B2 , Kütahya: Tahtaköprü-Domaniç arası, Domaniç'e 10 km kala, 1342 m.
<i>Chaerophyllum astrantia</i>	1167, M. Tekin	09.08.2011	A6 , Artvin: Camili köyü, Fındık yaylası, 2312 m.
<i>Chaerophyllum temulum</i>	1107, M. Tekin	21.06.2011	A4 , Kastamonu-Karabük arası, Karamuk köyü yakını ve içi, 1040 m.



- *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*
- *A. lamprocarpa* subsp. *chelikhii*
- *A. sylvestris* subsp. *nemarosa*
- *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*
- *A. tenerrima*
- *A. caucalis*
- *A. kotschii*
- *A. cerefolium*

Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan taksonların toplandığı lokalitelerin Türkiye haritası üzerindeki yerleşimleri (Orijinal)



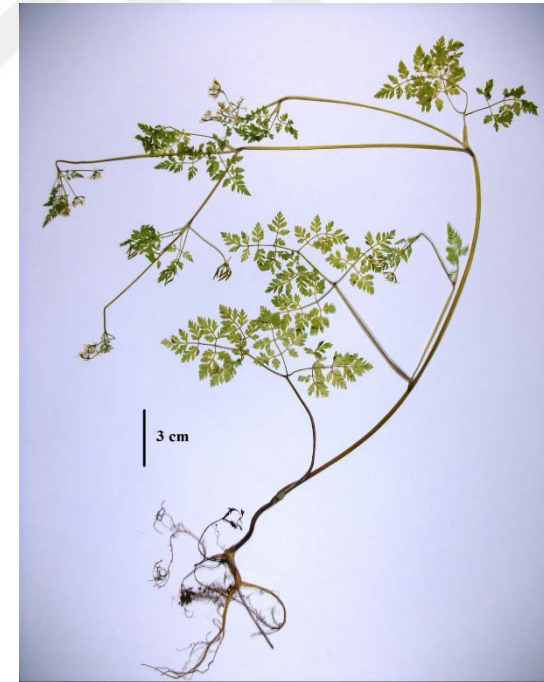
A. caucalis var. *caucalis*'in
herbaryum örneği, MT-1090.



A. tenerrima var. *tenerrima*'nın
herbaryum örneği, MT-1069.



A. cerefolium var. *trichocarpa*'nın
herbaryum örneği, MT-1075.

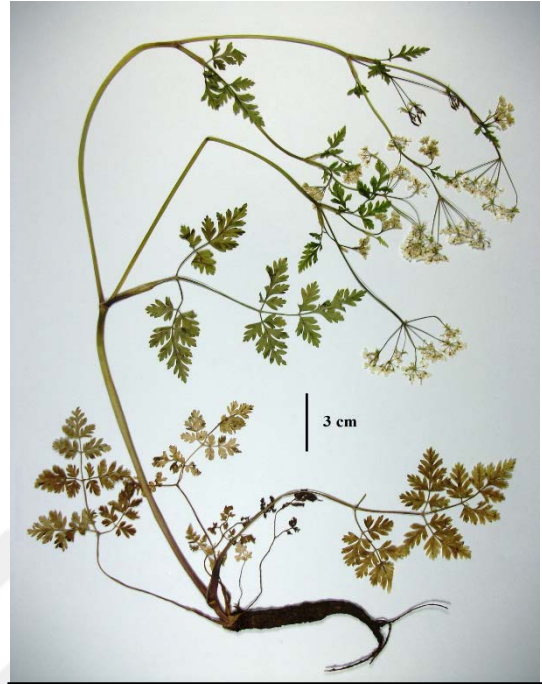


A. kotschy'nin herbaryum örneği,
MT-1164.

Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan taksonların herbaryum örneklerinin fotoğrafı (Tekin ve Civelek, 2013)



A. lamprocarpa var. *lamprocarpa*'nın herbarium örneği, MT-1073.



A. lamprocarpa var. *chelikii*'nin herbarium örneği, MT-1072.



A. sylvestris subsp. *sylvestris*'in herbarium örneği, MT-1129.



A. sylvestris subsp. *nemorosa*'nın herbarium örneği, MT-1151.

Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan taksonların herbarium örneklerinin fotoğrafı (Tekin ve Civelek, 2013) (Devamı)

2.2. Yapraklardan DNA İzolasyonu

TEKİN tarafından toplanıp preslenen bitki örneklerinden koyu yeşil renkli güzel kurutulmuş bitki örnekleri seçilerek lokalite bilgilerine göre ayrı ayrı isimlendirilip örnek saklama poşetlerine alındı. Bu şekilde alınan bitki örneklerinin sekans okuma aşamasına kadar yapılacak olan tüm çalışmaları Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarında yapıldı.

DNA, manuel yolla izole edilip, izolasyonda CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) metodu modifiye edilerek kullanıldı (Doyle ve Doyle, 1987). Öncelikle izolasyonda kullanılacak tampon çözeltiler hazırlandı. Çözeltilerin hazırlanışı aşağıdaki gibidir;

Tablo 2.2. DNA izolasyonunda kullanılan tampon çözeltilerin hazırlanması

Solüsyon	Konsantrasyon
CTAB	%2.00
NaCl (5 M)	1.4 M
EDTA (0,5 M) pH 8,0	0.2 M
TRIS-HCl (1 M) pH 8,0	0.1 M

Bu metoda göre ;

1. Bitki yaprakları porselen bir havan içerisinde ince toz haline getirilene kadar öğütüldü.
2. 1.5 ml'lik steril santrifüj tüplerinin içerisine öğütülmüş toz haldeki bitki örneklerinden 0.5 gram konulup üzerine 500 µl CTAB tamponundan eklendi ve tüm örnek akışkan hale gelene kadar vortex yardımıyla karıştırıldı.
3. Tüplere 5 µl Beta-Merkaptoetanol eklenerek tekrar vorteks yardımı ile karıştırıldı.
4. Bu şekilde hazırlanan tüpler önceden 65°C'ye ısıtılan su banyosuna bırakıldı ve 10 dakikada bir tüpler alt üst edilmek sureti ile karıştırıldı.
5. Süre sonunda su banyosundan alınan tüpler +20°C ve 14.000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi.

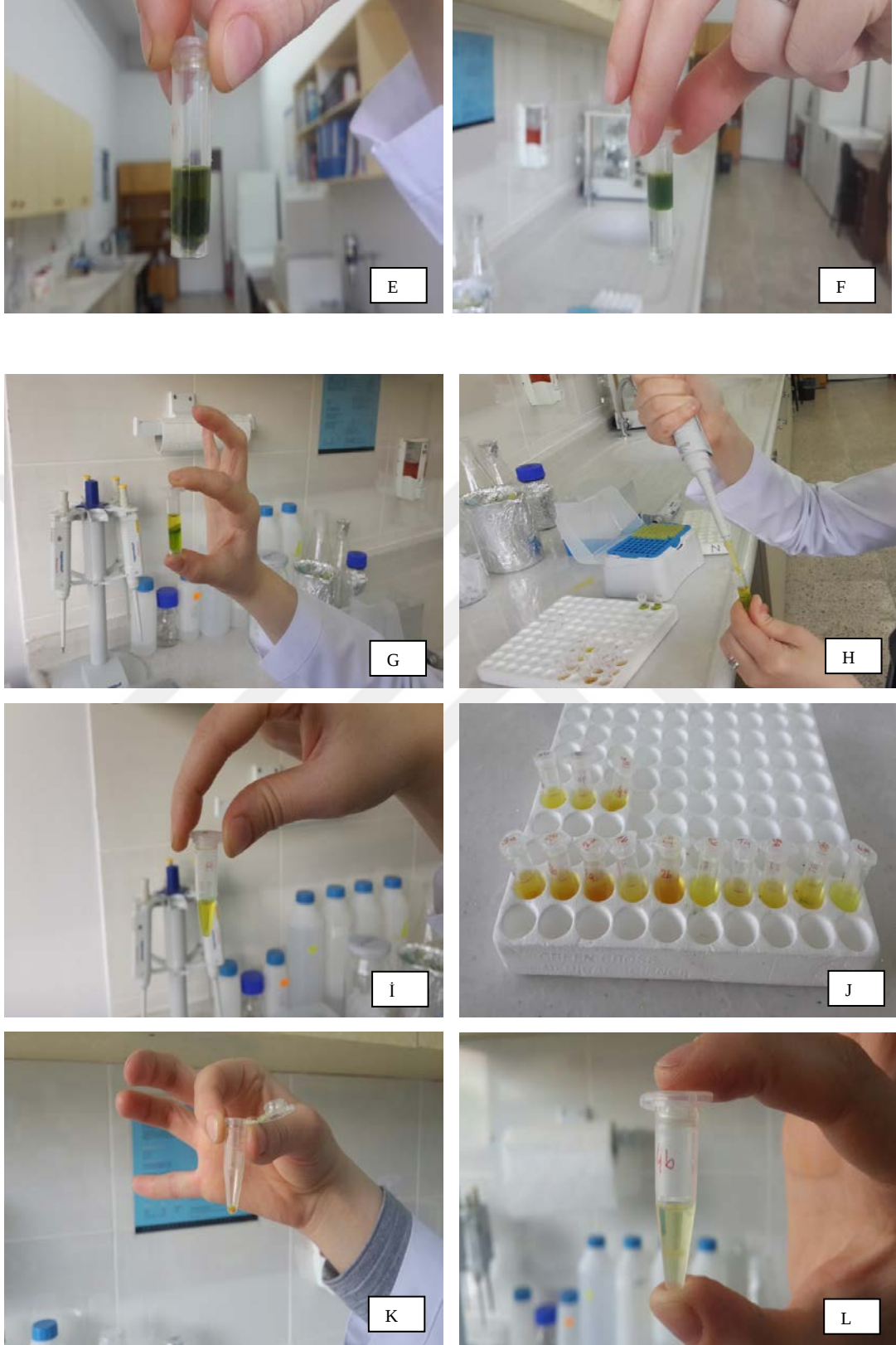
6. Santrifüj sonrası tüplerde 2 faz gözlemlendi. Altta kalan katı faz bitki parçalarını içerirken, üstteki sıvı süpernatant fazı DNA'yı içerir. Bu nedenle üst faz steril pipet uçları kullanılarak yeni steril santrifüj tüplerine alındı.
7. Süpernatant fazını içeren yeni steril santrifüj tüpleri üzerine 750 µl kloroform:isoamyl alkol (24:1) eklenerek yine +20°C ve 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
8. Santrifüj sonrası tüplerde 3 faz oluştu. Bunlar; en altta protein, lipid ve birçok sekonder bileşeni içeren sıvı kloroform fazı, ortada fazla miktarda hücre kalıntısı ve birazda çökmüş proteinleri içeren katı ara faz ve en üstte DNA'yı içeren sıvı renksiz fazdır.
9. En üstte DNA'yı içeren sıvı renksiz faz, ara faza dokunulmadan steril pipet uçları kullanılarak yeni steril santrifüj tüplerine alındı.
10. Üzerine 450 µl soğuk isopropanol eklenen tüpler 24 saat, -20°C derin dondurucuda bekletildi.
11. 24 saatin sonunda -20°C derin dondurucudan çıkarılan tüpler +4°C ve 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
12. Santrifüj sonrası tüplerde yine 3 faz gözlemlendi. En üstteki renksiz sıvı alkol fazı ve ortadaki kolloid kıvamlı fenolik bileşikler fazı dökülerek en altta ki beyaz renkli DNA pelleti görüldü.
13. Sadece DNA pelletinin kaldığı tüplere 500 µl % 70'lik etil alkol eklenerek hafifçe çalkalandı ve 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek ilk yıkama yapıldı.
14. Santrifüj sonrası kirlenmiş alkol dökülerek, tüplere tekrar 500 µl % 70'lik etil alkol eklendi ve hafifçe çalkalanarak 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek ikinci yıkama yapıldı.
15. İkinci yıkama sonrası kirlenen alkol dökülerek tüpler kurumaya bırakıldı (yaklaşık 1 saat).
16. Kuruyan tüplere 50 µl TE eklenerek DNA'nın çözündürülmesi sağlandı.
17. Bu şekilde izole edilen DNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -20°C' de saklandı.

İzole edilen DNA'lar %1'lik agaroz jele yüklenerek elektroforezde 80 W'da 45 dakika süre ile koşturuldu. Süre sonunda agaroz jel, alttan aydınlatma yapabilen bir UV

translimunator vasıtası ile görüntülendi. Ayrıca örneklerdeki DNA konsantrasyonu, Nanodrop Spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Bu cihazda 260/280 nm'deki absorbe değerleri DNA-protein saflık derecesini, 260/230 nm'deki absorbe değerleri ise DNA-RNA saflık derecesini belirtmektedir. DNA'lar kalite bakımından değerlendirildiğinde, kaliteli DNA'larda saflığın 260/280 nm absorpsiyon oranının 1,8-2,0 civarında olması beklenmektedir. Elde edilen değer 2,0'den yüksek olması; örneğin RNA, kloroform ya da fenol ile kirli olduğunu ve 1,8 değerinden düşük olması ise örnek içerisinde proteinler ya da polifenol bileşikler bulunduğunu ifade eder (Hoisington, 1992). DNA ölçümleri yapılmadan önce DNA'nın yükleneceği kısım bir bezle silinip, temizlendikten sonra ince uçlu bir pipet yardımıyla her bir DNA örneğinden 1 µL kadar yüklendi. DNA'ların kalite ve miktar tayini bu cihazla tespit edildi. DNA örneklerinin okunması için de kör (blank) olarak DNA yı içinde çözdürdüğümüz Tris-EDTA çözeltisi kullanıldı. Kalite ve miktar açısından en iyi olan DNA'lar PCR'da çoğaltma işlemi için seçildi.



Şekil 2.3. DNA izolasyonundan görüntüler **A.**Toz haline getirilmiş bitki örneklerinin CTAB çözeltisi ile vortekslenmiş hali **B.** β -Merkaptoetanol eklenen tüplerin su banyosuna gitmek için hazırlanması **C.** 65C°'lik su banyosundan bir görüntü **D.** Su banyosundan çıkan tüplerin santrifüjlenmesi



Şekil 2.3. DNA izolasyonundan görüntüler

E. Santrifüj sonrası fazların görüntüsü **F.** DNA'yı içeren sıvı faz **G.** DNA'nın kloroform:izoamil alkol karışımı ile yıkanması ve 3'lü fazların görüntüsü **H.** Üstte kalan açık renkli sıvı fazın ayrılması **I.** DNA'yı

içeren yıkanmış süpernatant **J.** Süpernatantın üzerine soğuk isopropanol eklenmesi ve -20°C derin dondurucuya kaldırılması **K.** İsoopropanolde bekleyen süpernatantın santrifüjlenmesi sonrası altta kalan DNA pelleti **L.** Alkol ile yıkanıp iyice kurutulmuş tüplerde DNA'nın TE ile çözündürülmesi ile hazırlanmış olan stok DNA çözeltisi

2.3. PCR Çalışmaları

48 genomik DNA örneği üzerinde *trne* ve *trnf* primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PCR çalışmalarında 48 örneğe ait (2'si dış grup) yaklaşık 350-400 nükleotit uzunluğa sahip *trnL3'-trnF* bölgesi çoğaltıldı. Elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde 1xTBE tamponu ile yürütüldü ve UV ışığı altında bantlar görüntülendi.

Çalışmamızda DNA örneklerinin yoğunluklarından kaynaklı bazı aksaklıklardan ötürü 3 farklı enzim ve enzimlerin çalışma koşullarına bağlı olarak PCR mix ile PCR profilleri uygulandı. Örneklerin çalıştığı enzimler, PCR mix'leri ve PCR profilleri tablolarda veriliği gibidir.

Tablo 2.3. Enzim 1 ve çalışma koşulları

Thermo Scientific Taq DNA Polymerase Enzimi PCR Mix ve PCR Profile					
PCR Mix		PCR Profile			
10X Taq buffer	2,5 µl	Sıcaklık	Süre	Döngü	Amaç
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	94 C	2 dk	1	Ön denatürasyon
dNTP mix (10 mM)	5 µl	94 C	15 sn	30	Denatürasyon
Forward P. (100 mM)	0,25 µl	53 C	30 sn		Bağlanma
Rewerse P. (100 mM)	0,25 µl	72 C	45 sn		Uzama
Template DNA	1,35 µl	72 C	5 dk	1	Sonlanma
Taq DNA polimeraz	0,62 µl	4 C	10 dk	-	Bekleme
d H ₂ O	13,03 µl				
25 µl					

Tablo 2.4. Enzim 2 ve çalışma koşulları

NEB Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase Enzimi PCR Mix ve PCR Profile						
PCR Mix		PCR Profile				
Phusion GC Buffer	5 µl		Sıcaklık	Süre	Döngü	Amaç
DMSO	0,75 µl		98 C	30 sn	1	Ön denatürasyon
dNTP mix (10 mM)	5 µl		98 C	10 sn	30	Denatürasyon
Forward P. (100 mM)	0,15 µl		58 C	30 sn		Bağlanma
Rewerse P. (100 mM)	0,15 µl		72 C	30 sn		Uzama
Template DNA	1,35 µl		72 C	10 dk	1	Sonlanma
DNA polimeraz	0,25 µl		4 C	10 dk	-	Bekleme
d H ₂ O	12,20 µl					
25 µl						

Tablo 2.5. Enzim 3 ve çalışma koşulları

Promega Go Taq DNA Polymerase Enzimi PCR Mix ve PCR Profile						
PCR Mix		PCR Profile				
Taq buffer (Colorless)	5 µl		Sıcaklık	Süre	Döngü	Amaç
MgCl ₂ (25 mM)	1,5 µl		95 C	2 dk	1	Ön denatürasyon
dNTP mix (100 mM)	0,5 µl		95 C	1 dk	30	Denatürasyon
Forward P. (100 mM)	0,25 µl		57 C	40 sn		Bağlanma
Rewerse P. (100 mM)	0,25 µl		72 C	1 dk		Uzama
Template DNA	1,35 µl		72 C	5 dk	1	Sonlanma
Go Taq polimeraz	0,25 µl		4 C	10 dk	-	Bekleme
d H ₂ O	17,00 µl					
25 µl						

2.4. PCR Ürünlerinin Gözlenmesi

PCR işleminden sonra çoğaltma işleminin gerçekleşip gerçekleşmediğini belirlemek için PCR ürünleri %1 lik agaroz jele yüklendi.

%1'lik agaroz jelin hazırlanışı aşağıda belirtildiği gibidir ;

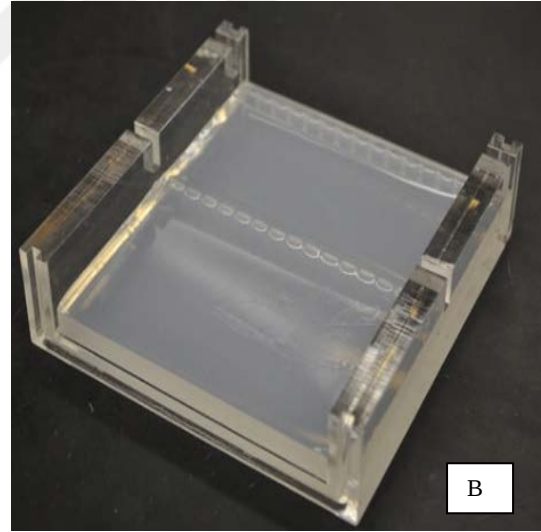
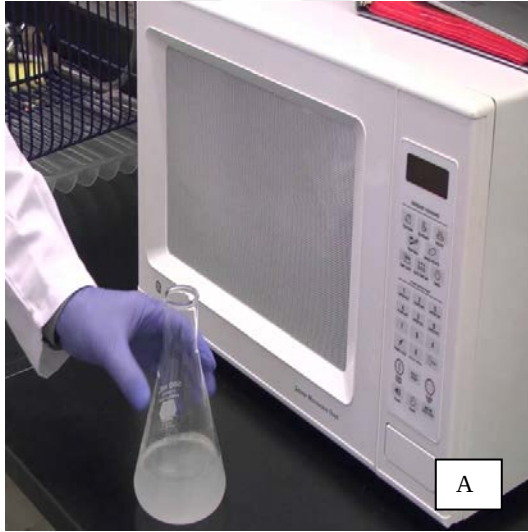
1.1 gr agaroz tartıldı ve üzerine 100 ml 1xTBE tamponu eklenerek mikrodalga fırında agaroz eriyinceye kadar kaynatıldı (yaklaşık 2 dk).

2. Kaynayan jel soğuk su altında yaklaşık 50-60°C'ye kadar soğutuldu.

3. Soğuyan jele 5 µl Ethidium Bromide (DNA' yı bazları birbirine bağlayan hidrojen bağlarının arasına yerleşmek suretiyle boyayarak UV altında görünmesini sağlayan boyar madde) ilave edildi.

4. 40-50°C sıcaklığına gelen jel agar tankına dökülerek içine tarak dişleri oturtuldu.

5. 25-30 dk sonra katılaştan jelden tarak dişleri dikkatlice çıkarılarak 1xTBE tamponu ile dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi.



Şekil 2.4. Agaroz jelin hazırlanması

A. Agaroz ve TBE tamponunun karıştırılıp mikrodalgaya yerleştirilmesi

B. Elektroforez tankında PCR ürünlerini yüklemeye hazır hale getirilmiş jel

Jelin elektroforez tankına yerleştirilmesi ile sistem hazır hale getirilmiş oldu. Bir miktar (yaklaşık 1-2 µl) loading dye (DNA yükleme boyası) ile 5 µl PCR ürünü boyanarak tarak dişleri sayesinde oluşturulan kuyucuklara yüklendi. Elektroforez 80 voltta 60 dk

koşturuldu. Süre sonunda jeldeki DNA bantlarının durumu alttan aydınlatma yapabilen bir UV translimunator kullanılarak görüntülendi.

2.5. DNA Dizi (Sekans) Analizi İşlemi

PCR ürünlerinin saflaştırılması ve dizilerinin okunması, hizmet alımı şeklinde BM Labosis firması aracılığı ile Macrogen (Amsterdam-Hollanda) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, *trnL3'-trnF* bölgesinin tamamının nükleotit dizileri, otomatik dizileme cihazında (forward ve reverse olmak üzere çift yönlü) *trne* ve *trnf* primerleri kullanılarak çıkarılmıştır.

2.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Analizlerde *Anthriscus* cinsinin Türkiye'nin 29 farklı bölgesindeki populasyonlardan toplanmış olan tür ve türaltı seviyelerindeki 8 taksonuna ait 46 farklı bireyin ve dış grup olarak kullanılan *Chaerophyllum astrantia* ile *Chaerophyllum temulum* türlerine ait birer (toplam 2) bireyin kloroplast DNA'sının *trnL3'-trnF* bölgesindeki baz dizilimi (sekansı) kullanıldı. Ham sekanslar FASTA formatında düzenlendi. Analiz edilen sekanslar ham sekanslara göre daha kısa oldu, çünkü baştan ve sondan güvenilir olmayan kısımlar analizlerden çıkartıldı.

Sekanslar düzenlendikten sonra Mega programının 5.1 versiyonu kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Bu kapsamda; bireylerdeki A, T, G ve C oranları, AT ve GC yüzdeleri, korunmuş bölgeler, varyasyonlu bölgeler, bilgi verici bölgeler, tekli kısımlar, homolog baz çiftleri belirlendi. Dış grup olarak yine TEKİN tarafından toplanmış olan *C. astrantia* ve *C. temulum* türlerinin bireyleri çalışmamıza katılarak *Anthriscus* cinsinin tür ve türaltı seviyelerindeki taksonlarına ait bireyler ile birlikte *trnL3'-trnF* bölgeleri çoğaltıldı ve bu program kapsamında istatistiksel analizlere dahil edildi.

Filogenetik ve evrimsel analizler sırasında çalışmamıza en uygun metodu belirleyebilmek için Mega 5.1' de yer alan tahmini model algoritmasından yararlanıldı. Buna göre çalışmamıza en uygun modelin, en düşük "BIC" (Bayesian Information Criterion) değerini veren T92 (Tamura-3-parameter) olduğuna karar verildi. Bu model kapsamında yer alan Maximum Parsimony yöntemi kullanılarak bireyler temelinde filogenetik ağaç hazırlandı.

3. BULGULAR

3.1. DNA İzolasyonu Sonuçları

PCR’da çoğaltma ve sekans analizleri için, izole edilen tüm bireylerin genomik DNA’ları, Maestrogen Nano Micro-Volume Spectrophotometer ile ölçülerek DNA miktar ve kalite tayini yapıldı, elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de verildi. DNA’ların saflık oranlarının ise 1,8-2,0 arasında değiştiği tespit edildi. Ölçümler her birey için ayrı ayrı yapıldı, DNA’ların konsantrasyon değerleri belirlendikten sonra PCR’da kullanılmak üzere -20°C’de muhafaza edildi.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bireylerin DNA konsantrasyonları

Tür İsimleri	Lokasyon Bilgileri	DNA konsantrasyonu
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Konya (1127 m), -MT 1082	310,70 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Aksaray (1184 m), -MT 1089	473,68 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Erzincan (1265 m), -MT 1096	1856,15 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Amasya (404 m), -MT 1105	788,55 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Eskişehir (1320 m), -MT 1086	2470,64 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Amasya (726 m), -MT 1074	2997,47 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Isparta (972 m), -MT 1204	605,73 ng
<i>Anthriscus cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	Amasya (726 m), -MT 1192	1092,57 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Aksaray, (1184 m) –MT 1090	3952,81 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Eskişehir, (866 m) –MT 1085	850,15 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Bolu, (1373 m) –MT 1113	888,03 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Kocaeli, (210 m) –MT 1196	1865,42 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Afyonkarahisar, (1153 m) –MT 1083	3213,79 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Tekirdağ, (168 m) –MT 1077	2546,75 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Isparta, (937 m) –MT 1080	1023,85 ng

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bireylerin DNA konsantrasyonları (Devamı)

<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Bursa, (311 m) –MT 1197	1689,95 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Afyonkarahisar, (1130 m) –MT 1084	661,84 ng
<i>Anthriscus caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	Edirne, (50 m) –MT 1078	3600,61 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Kars, (2114 m) –MT 1130	3016,90 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Iğdır, (2008 m) –MT 1126	1099,50 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Kars, (2108 m) –MT 1129	1919,63 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Artvin, (1078 m) –MT 1143	1353,26 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Ardahan, (1849 m) –MT 1156	2812,45 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Bolu, (1379 m) –MT 1115	2476,79 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Sivas, (1447 m) –MT 1227	1600,22 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Artvin, (2380 m) –MT 1142	369,82 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Artvin, (1435 m) –MT 1140	988,55 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Erzincan, (1865 m) –MT 1099	2772,80 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Ardahan, (1849 m) –MT 1157	1802,46 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Artvin, (1556 m) –MT 1166	364,18 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Bayburt, (2375 m) –MT 1015	1355,28 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Bilecik, (1251 m) –MT 1226	1220,72 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Ankara, (1130 m) –MT 1195	679,10 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Konya, (1481 m) –MT 1205	4346,43 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Amasya, (1233 m) –MT 1106	2996,50 ng
<i>Anthriscus sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	Kütahya, (1342 m) –MT 1199	2167,33 ng
<i>Anthriscus kotschy</i>	Niğde (2584 m), -MT 1164	1288,53 ng
<i>Anthriscus kotschy</i>	Niğde (2666 m), -MT 1163	419,66 ng
<i>Anthriscus kotschy</i>	Kastamonu (2430 m), -MT 1161	1356,78 ng
<i>Anthriscus tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	Aydın, (759 m), -MT 1095	850,03 ng

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan bireylerin DNA konsantrasyonları (Devamı)

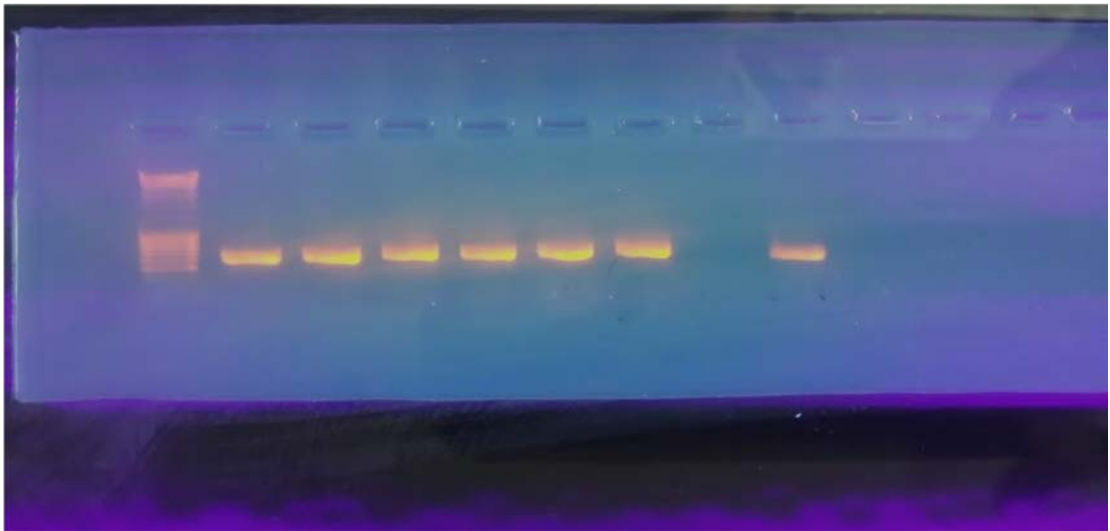
<i>Anthriscus tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	Aydın, (759 m), -MT 1069	230,79 ng
<i>Anthriscus tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	Manisa, (670 m), -MT 1200	258,71 ng
<i>Anthriscus lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	Hatay, (958 m) -MT 1218	1181,04 ng
<i>Anthriscus lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	Osmaniye, (1265 m) -MT 1224	2388,77 ng
<i>Anthriscus lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	Karaman, (1158 m) - MT 1212	2991,05 ng
<i>Chaerophyllum astrantia</i> (outgroup)	Artvin, (2312 m) - MT 1167	2689,23 ng
<i>Chaeropyllum temulum</i> (outgroup)	Kastamonu, (1040 m) - MT 1107	181,01 ng

3.2. Kloroplast DNA'nın *trnL3'*-*trnF* Bölgesinin Çoğaltılması

Kloroplast DNA'nın *trnL3'*-*trnF* bölgesinin, evrensel primerlerden e-f primer çifti kullanılarak, materyal ve metot kısmında verilen PCR şartlarında çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünleri, %1'lik agaroz jelde yürütüldü ve DNA bantları Şekil 3.1'de gösterildiği gibi elde edildi. Kullandığımız primerlerin baz dizilimi;

trne (Forward): 5' GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC 3'

trnf (Reverse): 5' ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG 3' şeklindedir.



Şekil 3.1. PCR çalışmalarından bir örnek

3.3. Kloroplast DNA'nın *trnL3'-trnF* Bölgesinin Sekans Analiz Sonuçları

Anthriscus cinsine ait Türkiye'nin 29 farklı bölgesinden toplanmış 10 takson (2'si dış grup) ve her taksondan sayıları 3-8 arası değişen farklı lokasyonda yetişmiş bireylerin kloroplast DNA'sının *trnL3'-trnF* bölgesinin sekans dizisi tespit edilmeye çalışıldı.

Macrogen'den gelen çift yönlü sekans pik sonuçları (Ek-2) Finch TV 1.4 versiyonu kullanılarak değerlendirildi, "Multiple Alignment Blast" otomatik sekanslama sistemi kullanılarak karşılaştırıldı ve göze çarpan bazı farklılıklar manuel olarak düzeltildi. NCBI (National Center for Biotechnology Information)'dan yapılan taramalar sonucu *Anthriscus* cinsi için *trnL3'-trnF* bölgesinin yaklaşık 380-400 bazlık bir bölge olduğu bilgisine ulaşıldı. Çalışılan bölgenin doğruluğunu ıspatlamak için NCBI' dan daha önce kloroplast genomu çalışılmış *Anthriscus cerefolium'* a ait bir bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin sekans dizilimide çalışmaya dahil edildi (GU456628.1). Alignment sonuçlarının daha düzgün görüntülenebilmesi için baştan ve sondan 20-40 bazlık bir kısım tarafımızca değerlendirilmeye alınmadı. Bu nedenle, istatistiksel analizler sırasında bireylere ait yaklaşık 315 baz çifti kullanıldı. Çalışma sonunda 10 taksona ait (2 takson dış grup olmak üzere) toplam 48 bireyin kloroplast DNA'sının *trnL3'-trnF* bölgesinin sekans dizilimi kullanıldı ve bu dizilim ekler kısmında verildi (Ek-1).

3.4. Veri Analizleri

İkisi dış grup olmak üzere toplam 48 bireye ait DNA sekans dizilimleri Mega programının 5.1 versiyonu kullanılarak değerlendirildi. Bütün bireylerin DNA sekans dizilimi bu program kapsamında istatistiksel analizlere tabii tutuldu.

3.4.1. Kloroplast DNA'sına Ait *trnL3'-trnF* Bölgesinin Bireylere Göre Nükleotid Kompozisyonları

Çalışma kapsamında kullanılan bütün bireylerin sekans dizilimi Mega 5.1 programına aktararak "Clustal W" basamağında karşılaştırıldı, 318 baz çifti ortak olduğundan baştan ve sondan fazla kısımlar kesilerek yapılan istatistik analizler sonucunda bireylerin nükleotid kompozisyonu belirlendi. Buna göre; Tablo 3.2'de verilen değerler incelendiğinde bireylerin T, C, A ve G bazlarının oranları bakımından birbirinden çok

farklı olmadığı, baz kompozisyonlarının aşağı yukarı benzer olduğu, avaraj değerler toplandığında ise bireylerdeki A-T oranının % 65.9, G-C oranının ise % 34.1 olduğu, bireylerin A-T bakımından daha zengin olduğu tespit edildi.

Tablo 3.2. Kloroplast DNA'sına Ait *trnL3'-trnF* Bölgesinin Bireylere Göre Nükleotid Kompozisyonları

Bireyin adı	Nükleotid kompozisyonu				
	T	C	A	G	Toplam
<i>A.kotschyi</i> (MT 1164)	35,2	17,5	30,8	16,5	315,0
<i>A.kotschyi</i> (MT 1163)	35,2	17,5	30,8	16,5	315,0
<i>A.kotschyi</i> (MT 1161)	35,2	17,5	30,8	16,5	315,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT 1129)	34,5	18,4	30,3	16,8	310,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT 1126)	34,5	18,4	30,3	16,8	310,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT 1130)	34,5	18,4	30,3	16,8	310,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT1143)	34,5	18,4	30,3	16,8	310,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT 1156)	34,2	18,7	30,3	16,8	310,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i> (MT 1115)	34,2	18,7	30,3	16,8	310,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (NCBI)	35,4	18,2	31,2	15,3	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1096)	35,4	18,2	31,2	15,3	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1082)	35,4	18,2	31,2	15,3	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1105)	35,4	18,2	31,2	15,3	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1089)	35,4	18,5	31,2	15,0	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1086)	35,7	18,2	31,2	15,0	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1204)	35,7	18,2	31,2	15,0	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1074)	35,7	18,2	31,2	15,0	314,0
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i> (MT 1192)	36,0	17,8	31,2	15,0	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1090)	35,4	17,5	30,3	16,9	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1085)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1113)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1196)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1083)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1077)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1080)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1197)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1084)	35,4	17,5	30,6	16,6	314,0
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i> (MT 1078)	35,4	17,5	30,9	16,2	314,0
<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i> (MT 1218)	35,5	17,9	30,4	16,3	313,0
<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i> (MT 1224)	35,5	17,9	30,4	16,3	313,0

Tablo 3.2. Kloroplast DNA'sına Ait *trnL3'-trnF* Bölgesinin Bireylere Göre Nükleotid Kompozisyonları (Devamı)

<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i> (MT 1212)	35,1	17,6	30,4	16,9	313,0
<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i> (MT 1095)	34,7	17,8	31,2	16,2	314,0
<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i> (MT 1069)	35,0	17,8	30,9	16,2	314,0
<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i> (MT 1200)	35,0	17,8	30,9	16,2	314,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1142)	34,8	17,9	30,7	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1227)	35,1	17,9	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1140)	35,1	17,9	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1166)	35,1	17,9	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1099)	33,9	18,8	30,7	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1157)	35,1	17,9	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1015)	35,1	17,6	30,7	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1226)	35,5	17,6	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1195)	35,5	17,6	30,4	16,6	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1205)	35,5	17,9	30,4	16,3	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1106)	35,5	17,9	30,4	16,3	313,0
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i> (MT 1199)	35,1	17,9	30,4	16,6	313,0
<i>C.astrantia</i> (MT 1167)	35,1	18,2	31,0	15,7	313,0
<i>C.temulum</i> (MT 1107)	35,5	17,9	31,3	15,3	313,0
Avg.	35,2	17,9	30,7	16,2	313,2

3.4.2. Bireyler Arasındaki Moleküler Çeşitlilik Parametreleri

Çalışma kapsamında kullanılan 10 taksona ait 48 bireyin, *trn* e-f primerleri kullanılarak çoğaltılan *trnL3'-trnF* bölgesinin sekans diziliminin istatistiksel analizleri değerlendirildiğinde; korunmuş bölgeler (C), varyasyonlu bölgeler (V), bilgi verici bölgeler (Pi), tekli kısımlar (S), homolog baz çiftleri (ii), transitiyonel (si) ve transversiyonel (sv) çiftler ile R değeri (si/sv) gibi parametreler hesaplandı ve elde edilen değerler Tablo 3.3'de verildi.

Tablo 3.3. Bireyler arasındaki moleküler çeşitlilik parametreleri

Moleküler Çeşitlilik Parametreleri	<i>trnL3'-trnF</i> Bölgesi
Toplam Örnek Sayısı	48
Toplam Bant Uzunluğu	315
GC Oranı (%)	34,1
Korunmuş Bölgeler (C)	281
Varyasyonlu Bölgeler (V)	35
Tekli Kısımlar (S)	11
Parsimony Bilgi Verici Bölgeler (Pi)	24
Homolog Baz Çiftleri (ii)	304
Transitanyon Çiftler (si)	4,00
Transversiyonal Çiftler (sv)	4,00
R (si/sv)	0,80

Tablo 3.3' de gösterilen istatistiksel analizlere bakıldığında GC (%) oranının 34.1, korunmuş bölgelerin 281, varyasyonlu bölgelerin 35, bilgi verici bölgelerin 24, R(si/sv) değerinin ise 0.80 olduğu görüldü. Varyasyon açısından değişken bazların pozisyonu ise Şekil 3.2' de verildi.

<i>A.kotschyti</i> (MT 1164)	T	T	A	T	-	C	T	T	A	T	C	T	T	T	T	T	G	T	T	A	G	T	T	C	A	A	A	[40]
<i>A.kotschyti</i> (MT 1163)																												[40]
<i>A.kotschyti</i> (MT 1161)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1129)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1126)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1130)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1143)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1156)																												[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1115)		T							T	T																		[40]
<i>A.cerefolium</i> (NCBI)															T	T	G											[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1096)															T	T	G	G										[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1082)															T	T	G	G										[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1105)															T	T	G	G										[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1089)															T	T	G	G										[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1086)															T	T	G	G										[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1204)															C	C	T	T	T	T	T							[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1074)															C	C	T	T	T	T	T							[40]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1192)															T	T	T	T	T	T								[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1090)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1085)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1113)										C					T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1196)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1083)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1077)										C					T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1080)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1197)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1084)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.caucalis</i> (MT 1078)															T	T	G	T		A	G				A			[40]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>lamprocarpa</i> (MT 1218)																	T	G	T	A	G							[40]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelitidhi</i> (MT 1265)																	T	G	T	A	G							[40]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelitidhi</i> (MT 1212)																	T	G	T	A	G							[40]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1095)	A														T	T	T	G	T	A	G				A			[40]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1069)																T	T	T	G	T	A	G			A			[40]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1200)																T	T	T	G	T	A	G			A			[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1142)	A															T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1227)																T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1140)																T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1166)																T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1099)	C	C								A	A	C				T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1157)																T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1015)	A															T	T	T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1226)																		T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1195)																T		T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1205)																		T	G	T	A	G						[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1106)																			T	G	T	A	G					[40]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemarosa</i> (MT 1199)																T		T	G	T	A	G						[40]
<i>Castrantia</i>																			T	G	T	A	G					[40]
<i>C.temulun</i>																			T	T	G	T	A	G				[40]

<i>A.kotschyti</i> (MT 1164)	A	T	T	A	G	T	T	A	T	C	T	T	A	T	A	T	C	-	A	C	C	T	A	C	T	T	T	A	A	A	C	G	G	A	[80]
<i>A.kotschyti</i> (MT 1163)																																			[80]
<i>A.kotschyti</i> (MT 1161)																																			[80]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1129)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1126)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1130)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1143)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1156)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1115)																				A	C								C	T				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (NCBI)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1096)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1082)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1105)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1089)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1086)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1204)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1074)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.cerefolium</i> (MT 1192)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1090)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1085)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1113)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1196)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1083)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1077)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1080)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1197)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1084)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.caucalis</i> (MT 1078)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>lamprocarpa</i> (MT 1218)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelitidhi</i> (MT 1265)																				A	C								C	C				[80]	
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelitidhi</i>																																			

Şekil 3.2. Varyasyon açısından değişken bazların pozisyonu

<i>A.kotschyii</i> (MT 1164)	T	C	C	G	A	G	A	G	A	A	A	A	A	T	T	T	G	T	C	T	C	T	T	A	T	G	A	C	A	A	G	T	C	T	T	G	T	G	A	[120]
<i>A.kotschyii</i> (MT 1163)																																								[120]
<i>A.kotschyii</i> (MT 1161)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1129)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1126)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1130)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1143)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1156)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1115)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (NCBI)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1096)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1082)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1105)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1089)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1086)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1204)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1074)																																								[120]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1192)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1090)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1085)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1113)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1196)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1083)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1077)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1080)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1197)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1084)																																								[120]
<i>A.caucalis</i> (MT 1078)																																								[120]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>lamprocarpa</i> (MT 1218)																																								[120]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelidhii</i> (MT 1265)																																								[120]
<i>A.lamprocarpa</i> subsp <i>chelidhii</i> (MT 1212)																																								[120]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1095)																																								[120]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1069)																																								[120]
<i>A.tenerrima</i> (MT 1200)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1142)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1227)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1140)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1166)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1099)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1157)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1015)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1226)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1195)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1205)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1106)																																								[120]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>nemerosa</i> (MT 1199)																																								[120]
<i>C.astrantia</i>																																								[120]
<i>C.temulon</i>																																								[120]

<i>A.kotschyii</i> (MT 1164)	T	A	T	A	T	G	A	T	A	C	A	T	G	T	A	C	A	A	A	T	G	A	C	G	T	C	T	T	T	G	A	C	A	A	A	G	A	C	[160]	
<i>A.kotschyii</i> (MT 1163)																																								[160]
<i>A.kotschyii</i> (MT 1161)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1129)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1126)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1130)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1143)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1156)																																								[160]
<i>A.sylvestris</i> subsp <i>sylvestris</i> (MT 1115)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (NCBI)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1096)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1082)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1105)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1089)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1086)																																								[160]
<i>A.cerefolium</i> (MT 1204)			</																																					

Şekil 3.2. de gösterilmiş olan varyasyon açısından değişken bazların pozisyonu incelendiğinde; her taksonun farklı lokalitelerdeki populasyonlardan toplanan kendi bireylerinin genellikle benzer baz dizilimleri gösterdiği ve bazı taksonların da kendi bireyleri içerisinde farklılık gösterdiği görülmektedir. Bazlarda meydana gelen farklılaşmalar nedeniyle oluşan varyasyonların yer aldığı bilgi verici bölgeler adını verdiğimiz kısımlarda gözlenen nükleotid değişimleri; nokta mutasyonların (transisyonel ve transversiyonel), mikro delesyonların ve mikro insersiyonların bir sonucudur (Şekil 3.2).

Tablo 3.4. Çalışılan taksonlara göre bilgi verici bazların pozisyonları

Çalışılan taksonlar		Bilgi verici baz sayısı	Kendisine özgü bilgi verici bazları	Bilgi verici bazların pozisyonu
Sect. <i>Anthriscus</i>	<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	13	43., 54., 154., 231., 244., 254.	22., 26., 27., 29., 30., 43., 54., 77., 88., 154., 231., 244., 254.
	<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	8	0	26., 27., 29., 30., 37., 77., 292., 293.
	<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	10	161	26., 27., 29., 30., 37., 77., 88., 161., 292., 293.
Sect. <i>Caroides</i>	<i>A. kotschy</i>	11	6., 7., 44., 60., 61., 74.	6., 7., 26., 27., 29., 30., 44., 60., 61., 74., 77.
Sect. <i>Cacosciadium</i>	<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	7	0	26., 27., 29., 30., 31., 77., 309.
	<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	8	2	2., 26., 27., 29., 30., 31., 77., 309.
	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	7	0	26., 27., 29., 30., 31., 77., 309.
	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	10	23., 24., 25., 75.	22., 23., 24., 25., 26., 27., 29., 30., 75., 77.

Mega programına aktarılıp “Clustal W” basamağında karşılaştırılarak oluşturulan sekans hizalama sonuçlarına göre ; *Anthriscus* cinsi taksonlarına ait bireyler için 2., 6., 7., 22., 23., 24., 25., 26., 27., 29., 30., 31., 37., 43., 44., 54., 60., 61., 74., 75., 77., 88., 154., 161., 231., 244., 254., 292., 293. ve 309. bazlar olmak üzere toplam 30 adet bilgi verici baz (varyasyonlu bölge) tespit edilmiştir (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

Tablo 3.4.'te de görüldüğü gibi, bilgi verici bölgelerin, *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonunda 22., 26., 27., 29., 30., 43., 54., 77., 88., 154., 231., 244. ve 254. bazlar olduğu, *A. caucalis* var. *caucalis* taksonunda 26., 27., 29., 30., 37., 77., 292. ve 293. bazlar olduğu, *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonunda 26., 27., 29., 30., 37., 77., 88., 161., 292., 293. bazlar olduğu, *A. kotschyi* türünde 6., 7., 26., 27., 29., 30., 44., 60., 61., 74. ve 77. bazlar olduğu, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* alttüründe 22., 23., 24., 25., 26., 27., 29., 30., 75. ve 77. bazlar olduğu, *A. sylvestris* subsp. *memorosa* alttüründe 26., 27., 29., 30., 31. ve 77., 309 bazlar olduğu, *A. lamprocarpa* türünün her iki alttüründe ise 26., 27., 29., 30., 31., 77. ve 309. bazlar olduğu gözlenmiştir. Ancak, *A. lamprocarpa* subsp. *chelikaii*'nin sadece Karaman popülasyonu bireylerinde 2. baz ilave bilgi verici bölgedir. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikaii*'nin Osmaniye popülasyonu bireylerinde ise *A. lamprocarpa* var. *lamprocarpa* da dahil diğer tüm taksonlarda olduğu gibi 2. baz bilgi verici bölge değildir. Aynı türün alttürleri olarak değerlendirilen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ile *A. sylvestris* subsp. *memorosa* arasında tüm taksonlar için ortak olan bazlar dışında, hiçbir ortak bilgi verici bölgenin bulunmaması oldukça ilginçtir. Ayrıca tüm taksonlarda 26., 27., 29., 30., ve 77. baz ortak bilgi verici bölgelerken, 77. baz aynı zamanda en değişken ortak bilgi verici bölgedir (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

Sect. *Anthriscus* 37., 43., 54., 154., 161., 231., 244., 254., 292. ve 293. bazlar olmak üzere toplam 10 adet kendine özgü bilgi verici bölgeye sahiptir. Son zamanlarda *A. cerefolium* türünü Sect. *Anthriscus*'tan alınarak Sect. *Cerefolium*'a dahil etme fikri taraftar bulmaya başlamıştır. Bu düzenleme kabul edilecek olursa, Sect. *Anthriscus* (Fabr.) Neilreich. 37., 161., 292., 293. bazlar olmak üzere toplam 4 adet, Sect. *Cerefolium* (Fabr.) Neilreich. İse 43., 54., 154., 231., 244., 254. bazlar olmak üzere toplam 6 adet kendine özgü bilgi verici bölgeye sahip olacaktır. Sect. *Caroides* 6., 7., 44., 60., 61. ve 74., bazlar olmak üzere toplam 6 adet, Sect. *Cacosciadium* ise 2., 23., 24., 25., 75. ve 309. bazlar olmak üzere toplam 7 adet kendine has bilgi verici bölgeye sahiptir.

3.4.3. Bilgi Verici Bazların (Varyasyonlu Bölgelerin) Mutasyonel Özellikleri

Yukarıda da belirtildiği gibi, *Anthriscus* cinsi taksonlarına ait bireyler için toplam 30 adet bilgi verici baz (varyasyonlu bölge) tespit edilmiştir. Bunlardan 77. baz en değişken ortak bilgi verici bölge olup, parental bazını tespit etmek ve mutasyon çeşitleri hakkında yorum yapabilmek oldukça güçtür. Bundan dolayı da ancak parental bazın tahminine

dayanan varsayımlar temelinde bu bazın mutasyonları hakkında yorum yapılabilir (Şekil 3.2.).

77. baz hariç tutulduğunda, geride kalan 29 adet bilgi verici bölgelerde 9 adet transisyonel mutasyon, 14 adet transversiyonel mutasyon, 5 adet mikro delesyon ve 2 adet duplikasyon tespit edildi (sadece *A. kotschy*'de bulunan 6. ve 7. bazlardaki mutasyonal durum çok büyük bir ihtimalle tüm taksonlarda ortak olan 8. (C) ve 9. (T) bazlarda görülen duplikasyonla meydana gelmiş olup, zorlama bir yorum yapmak için belki farklı açıdan bakılarak *A. kotschy* hariç tüm taksonlarda görülen 6. ve 7. bazlardaki mikro delesyon olarak da değerlendirilebilir).

Bilgi verici bazların mutasyonal özellikleri detaylı bir şekilde aşağıda açıklanmaktadır. Taksonlarda yaygın bulunan bazların kısaltmaları bold (kalın) yazılarak verilmektedir.

- 2. baz tüm taksonların bireylerinde ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye popülasyonu bireyinde timin (**T**) iken sadece *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Karaman popülasyonu bireyinde transversiyonel mutasyon ile guanine dönüşmüştür (**T** => **G**).
- 6. ve 7. bazlar *A. kotschy*'de sırasıyla sitozin (C) ve timin (**T**) iken, çok büyük bir ihtimalle diğer tüm taksonlarda ortak olan 8. (C) ve 9. (**T**) bazlar duplikasyon mutasyonu ile *A. kotschy*'de 6., 7. bazlar bölgesini meydana getirmiştir veya çok az bir ihtimalle sadece *A. kotschy*'de görülen 6. ve 7. bazlar diğer tüm taksonlarda mikro delesyona uğrayarak yok olmuştur.
- 22. baz tüm taksonlarda timin (**T**) iken, sadece *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'nın bazı bireylerinde (3 birey) transisyonel mutasyonlar ile sitozine dönüşmüş (**T** => **C**) ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* bireylerinde ise mikro delesyonla yok olmuştur.
- 23., 24., ve 25. bazlar bütün taksonlarda timin (**T**) iken sadece *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'te mikro delesyonla yok olmuştur.
- 26. baz *A. kotschy* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'te transversiyonel mutasyonlar ile sitozin (**G** => **C**) dönüşürken, , *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da yine transversiyonel mutasyonlar ile sitozin ve timin'e (**G** => **T**, **C**) dönüşmüştür. Geri kalan tüm taksonlarda ise guanin (**G**) olarak görülmüştür.

- 27. baz tüm taksonlarda timin (T) iken, *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'nın bazı bireyleri ile *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. kotschy*'de transversiyonal mutasyonlarla guanin'e (T => G) dönüşmüştür.
- 29. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa*, *A. kotschy* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonlarının bireylerinde transversiyonal mutasyonlarla timine dönüşmüşken (A => T), diğer taksonlarda değişmemiş ve adenin (A) olarak kalmıştır.
- 30. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa*, *A. kotschy* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* bireylerinde olmak üzere üç taksonda transisyonl mutasyonlar sonucu adenine dönüşmüşken (G => A), diğer taksonlarda değişmemiş ve guanin (G) olarak kalmıştır.
- 31. baz *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*, *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonlarına ait bireylerde mikro delesyonla yok olmuşken, diğer taksonlarda guanin (G) olarak gözlenmiştir.
- 37. baz tüm taksonlarda sitozin (C) iken, *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. caucalis* var. *caucalis* bireylerinde transversiyonal mutasyon ile adenine dönüşmüştür (C => A).
- 43. baz tüm taksonlarda timin (T) iken sadece *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da transisyonl mutasyonla sitozine dönüşmüştür (T => C).
- 44. baz tüm taksonlarda sitozin (C) iken, sadece *A. kotschy*'de transversiyonal mutasyon sonucu adenin olmuştur (C => A).
- 54. baz tüm taksonlarda adenin (A) iken, sadece *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da transversiyonal mutasyonla sitozin olmuştur (A => C).
- 60. baz *A. kotschy* taksonuna ait bireylerde mikro delesyonla yok olmuşken, sözkonusu baz tüm taksonlarda adenin (A) olarak gözlenmiştir.
- 61. baz tüm taksonlarda sitozin (C) iken, *A. kotschy* taksonuna ait bireylerde transversiyonal mutasyon geçirerek adenine dönüşmüştür (C=>A).
- 74. baz *A. kotschy* taksonuna ait bireylerde transversiyonal mutasyon sonucu adenin olarak değişmişken (C => A), diğer tüm taksonlarda değişmeyerek sitozin (C) olarak kalmıştır.

- 75. baz sadece *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonuna ait bireylerde transversiyonal mutasyon sonucu timin ve sitozin'e dönüşürken (**A** => **T**, **C**), diğer tüm taksonlarda değişmeyerek adenin (**A**) olarak kalmıştır.

- 77. baz en değişken baz olup, parental bazını tespit etmek oldukça güçtür. Bundan dolayı da ancak parental bazın tahminine dayanan varsayımlar temelinde bu bazın mutasyonları hakkında yorum yapılabilir. Tablo 4.8'den de rahat takip edilebileceği üzere;

- ✓ Eğer parental baz adenin (**A**) ise sadece transversiyonal mutasyonlar (**A** => **C** ve **A** => **T**),
- ✓ Eğer parental baz sitozin (**C**) ise hem transversiyonal mutasyonlar (**C** => **A**) ve hemde transisyonal mutasyonlar (**C** => **T**),
- ✓ Eğer parental baz timin (**T**) ise hem transversiyonal mutasyonlar (**T** => **A**) ve hemde transisyonal mutasyonlar (**T** => **C**) meydana gelmiş olabilir.
- ✓ Taksonların 77. bazları *A. cerefolium* var. *trichocarpa*, *A. caucalis* var. *caucalis*, *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. kotschy*'nin bütün bireylerinde adenin (**A**); *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* ve *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*'nın bütün bireylerinde timin (**T**); *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın bazı bireylerinde timin (**T**) ve bazı bireylerinde ise sitozin (**C**); *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'in bütün bireylerinde sitozin (**C**) şeklindedir (Tablo 4.8).

- 88. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinde transisyonal mutasyonla adenin halini almışken (**G** => **A**), *A. tenerrima* var. *tenerrima* bireylerinde transversiyonal mutasyonla timine dönüşmüştür (**G** => **T**). Geri kalan tüm taksonlarda ise değişmeyerek guanin (**G**) kalmıştır.

- 154. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinde transisyonal mutasyon sonucu timin olarak farklılaşmışken (**C** => **T**), diğer tüm taksonlarda değişmeyerek sitozin (**C**) şeklinde kalmıştır.

- 161. baz *A. tenerrima* var. *tenerrima* bireylerinde transisyonal mutasyon sonucu sitozine dönüşmüşken (**T** => **C**), diğer taksonlarda değişmemiş ve timin (**T**) olarak kalmıştır.

- 231. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinde transisyonal mutasyon sonucu adenin olarak farklılaşmışken (**G** => **A**), diğer taksonlarda değişmemiş ve guanin (**G**) olarak kalmıştır.

- 244. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinde transisyonel mutasyonla adenine dönüşmüşken (**G** => **A**), diğer taksonlarda değişmemiş ve guanin (**G**) olarak kalmıştır.
- 254. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinde görülen transversiyonal mutasyon sonucu timine dönüşmüşken (**G** => **T**), diğer taksonlarda değişmemiş ve guanin (**G**) olarak kalmıştır.
- 292. baz *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonlarına ait bireylerde transversiyonal mutasyonlar sonucu sitozine dönüşmüşken (**A** => **C**), diğer taksonlarda değişmemiş ve adenin (**A**) olarak kalmıştır.
- 293. baz *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonlarına ait bireylerde transisyonel mutasyonlar sonucu adenine dönüşmüşken (**G** => **A**), diğer taksonlarda değişmemiş ve guanin (**G**) olarak kalmıştır.
- 309. baz *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın iki bireyi ile *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin Karaman populasyonu bireyinde transversiyonal mutasyon sonucu sitozine dönüşmüşken (**G** => **C**), diğer tüm taksonlar ile *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin Osmaniye populasyonu bireyinde değişmeyerek guanin (**G**) halinde kalmıştır.

3.4.4. *trnL3'*-*trnF* Bölgesinin Baz Dizilimine Göre Taksonların Genetik Özellikleri

Mitokondri ve kloroplast DNA'larının çekirdek DNA'sından yapı ve işlev bakımından hiçbir farkı bulunmamaktadır. Yalnızca mitokondri (mtDNA) ve kloroplast DNA'sı (cpDNA), çekirdek DNA'sı gibi doğrusal değil, halkasal yapıdadır. DNA'nın kromozom şeklinde organizasyonunda gerekli olan histon proteinleri bulunmaz, bu nedenle de DNA'da nukleozom şeklindeki paketlenme yoktur ve nasıl paketlenildiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Her yeni jenerasyonda crossing over (homolog rekombinasyon)'dan ötürü en az % 50 oranında değişen (yeniden düzenlenen) çekirdek DNA'sının yanında, mitokondri ve kloroplast DNA'sında crossing over (homolog rekombinasyon) meydana gelmemesinden dolayı değişiklikler görülmez. Ancak, kopyalama hatalarını kontrol etmeye yarayan bir sistem olmamasından dolayı Mitokondri

ve Kloroplast DNA'larında, çekirdek DNA'sına kıyasla daha hızlı varyasyonlar (genetik çeşitlilikler) oluşur.

Taksonların farklılaşmasından ve bir taksonun üyeleri arasındaki farklılıklardan bu genetik çeşitlilikler sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişiklikler "DNA Polimorfizmi" olarak adlandırılır. DNA Polimorfizmi, gen fonksiyonunda değişime neden olmaksızın gerçekleşen aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir.

DNA'daki polimorfizmler, doğal yollardan hücredeki normal işlemlerin bir sonucu olarak meydana gelen spontan mutasyonlar sonucu oluşur. Spontan mutasyonlar bir veya daha fazla bazın diziye katılması (mikro insersiyon veya mikro adisyon), diziden baz eksilmesi (mikro delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (nokta mutasyon veya substitüsyon) gibi birçok yolla oluşabilir. Nokta mutasyonlar transisyonel (Bir pürin bazının, bir diğeri pürin bazı ile yada bir pirimidin bazının bir diğeri pirimidin bazı ile yer değiştirmesi) veya transversiyonel (Bir pürin bazının bir pirimidin bazı ile yer değiştirmesi) olmak üzere iki çeşittir. DNA sekansında meydana gelen doğal polimorfizmler, türlerin bulundukları ortama adaptasyonlarını kolaylaştırarak, evrimsel süreçte ayakta kalabilmelerine olanak verir. Ayrıca, doğal yollardan meydana gelen bu polimorfizmler eşeyli üreme ile bireyden bireye aktararak kalıcı hale gelirse, zamanla türleşme mekanizmasına da katkıda bulunabilir.

Laboratuvar koşullarında mutajenler (mutasyona neden olan maddeler) kullanılarak uyarılmış mutasyonlar ile de DNA'da yapay polimorfizmler oluşturulabilir.

Çalıştığımız taksonların baz dizilimleri incelendiği zaman, her taksonun bireylerinin kendi içinde uyumlu olduğu, bazı taksonlarda görülen çeşitli bazlarda meydana gelen delesyonlar, duplikasyonlar gibi polimorfik oluşumlarla, taksonlar arası görülen gen akışı ve hibritleşmelerin devam eden türleşme mekanizmasına katkıda bulunduğu gözlenmiştir. Bazı taksonlarda da evrimsel süreçte meydana gelmiş olan polimorfik olaylar, sözkonusu taksonların türleşme mekanizmalarına da katkıda bulunmuş ve türleşmelerinin tamamlanması ile birlikte DNA dizilimi stabil bir hal almıştır.

Bilgi verici bölgeler; doğal ortamlarda mikro insersiyon, mikro delesyon ve nokta mutasyonlar gibi kendiliğinden ve doğal yollardan hücredeki normal işlemlerin bir sonucu olarak meydana gelen spontan mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır.

İncelenen taksonların *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimine göre genetik (bilgi verici bölge) özellikleri aşağıda verilmektedir. Koyu (bold) tonda yazılan bazlar, alternatiflerine göre (bireyler bazında) daha yaygın olduğunu belirtmektedir.

3.4.4.1. *A. cerefolium* var. *trichocarpa* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (22., 26., 27., 29., 30., 43., 54., 77., 88., 154., 231., 244., 254. Baz) Özellikleri

A. cerefolium var. *trichocarpa*'nın ayırd edici bölgelerinden 22. baz tüm taksonlarda timin (T) iken, *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da sitozin (C) ve timin (T), 26. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa*' da sitozin (C) ve timin (T) iken, diğer taksonlarda sitozin (C) ve guanin (G); *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'ya ait bireylerin bazılarında 27.baz guanin (G) bazılarında ise timin (T) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve guanin (G); 29. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve timin (T); 30. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve adenin (A); 43. baz sitozin (C) iken, tüm taksonlarda timin (T); 54. baz sitozin (C) iken, tüm taksonlarda adenin (A); 77. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda oldukça değişiklik göstererek *A. tenerrima* var. *tenerrima*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* alttürlerinde ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschyi*, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. 88. baz *A. cerefolium* var. *trichocarpa* adenin (A) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 154. baz timin (T) iken, tüm taksonlarda sitozin (C); 231. baz adenin (A) iken, tüm taksonlarda guanin (G); 244. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda guanin (G); 254. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) olduğu bulundu. *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici bazları 43., 54., 154., 231., 244. ve 254. bazlardır (Şekil 3.2).

Özet Değerlendirme: *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonu 13 adet bilgi verici bölgesiyle en yüksek farklılaşma oranına sahip tek tür olarak gözümüze çarpmıştır. Söz konusu taksonda bilgi verici bölgeler 22. (C, T), 26. (C, T), 27. (T, G), 29. (T), 30. (A), 43. (C), 54. (C), 77. (A), 88. (A), 154. (T), 231. (A), 244. (A) ve 254. (T) numaralı bölgelerde görülen değişikliklerle gerçekleşmiş olup, bu bölgeler diğer taksonlarda 22. (T, -), 26. (G, C), 27. (T, G), 29. (A, T), 30. (G, A), 43. (T), 54. (A), 77. (T, C,A), 88. (G, T), 154. (C), 231. (G), 244. (G) ve 254. (G) şeklindedir (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

A. cerefolium var. *trichocarpa* taksonuna ait çalışılan 8 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.2. *A. caucalis* var. *caucalis* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 37., 77., 292., 293. Baz) Özellikleri

A. caucalis var. *caucalis*'in çalışılan tüm bireylerinde 26. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda sitozin (C) ve guanin (G); 27. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 29. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve adenin (A); 30. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G); 37. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda sitozin (C) ve adenin (A); 292. baz sitozin (C) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve sitozin (C); 293. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve adenin (A) olduğu görülmektedir. Ayrıca, *A. caucalis* var. *caucalis*'te 77. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda oldukça değiştiği, *A. cerefolium* var. *trichocarpa* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima*'da adenin (A), *A. lamprocarpa* alttürleri ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschy*, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. *A. caucalis* var. *caucalis* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici bazının olmadığı görülmüştür (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. caucalis* var. *caucalis* taksonuna ait bireylerde bilgi verici bölgeler; 26. (G), 27. (T), 29.(A), 30.(G), 37. (A), 77. (T), 292. (C), 293. (A) şeklindedir. Bu bölgeler, incelenen diğer tüm taksonlarda ise 26. (C,G), 27. (G,T), 29.(T,A), 30.(A,G), 37. (C,A), 77. (C,A,T), 292. (A,C), 293.(G,A) şeklindedir (Şekil 3.2, Tablo 3.4).

A. caucalis var. *caucalis* taksonuna ait çalışılan 10 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1'de) verilmektedir.

3.4.4.3. *A. tenerrima* var. *tenerrima* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 37., 77., 88., 161., 292., 293. Baz) Özellikleri

A. tenerrima var. *tenerrima*'nın çalışılan tüm bireylerinde 26. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda sitozin (C), timin (T) ve guanin (G); 27. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 29. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve adenin (A); 30. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G); 37. baz *A. caucalis* var. *caucalis* ile benzerlik göstererek adenin (A) iken, diğer taksonlarda sitozin (C); 88. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G); 161. baz sitozin (C) iken, tüm taksonlarda timin (T); *A. caucalis* var. *caucalis* ile benzerlik gösteren

iki bazdan 292. baz sitozin (C) ve 293. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda 292. baz adenin (A) ve 293. baz guanin (G) olarak farklılık göstermektedir. Ayrıca *A. tenerrima* var. *tenerrima*'da 77. baz adenin (A) olarak gözlenirken, diğer taksonlarda oldukça değiştiği *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* alttürlerinde ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschy*, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonunun sadece kendisine ait bilgi verici baz 161. bazdır (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonuna ait bireylerde bilgi verici bölgeler ve bazlar; 26. (G), 27. (T), 29.(A), 30.(G), 37. (A), 77. (A), 88. (T), 161. (C), 292. (C), 293. (A) şeklindedir. Bu bölgeler incelenen diğer tüm taksonlarda 26. (C,T,G), 27. (G,T), 29.(T,A), 30.(A,G), 37.(C), 77.(C,A,T), 88.(G), 161.(T), 292.(A), 293.(G) şeklindedir. Ayrıca, aynı seksiyondan olan *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. caucalis* var. *caucalis* taksonlarının, 26., 27., 29., 30., 37., 292., 293. numaralı ortak bilgi verici bölgelerindeki bazların birbirine paralel olarak aynı yönde değiştiği gözlenmiştir (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

A. tenerrima var. *tenerrima* taksonuna ait çalışılan 3 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.4. *A. kotschy* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (6., 7., 26., 27., 29., 30., 44., 60., 61., 74., 77. Baz) Özellikleri

A. kotschy'nin çalışılan 3 bireyinde 6. baz sitozin (C) ve 7. baz timin (T) iken, diğer tüm taksonlarda bu iki baz delesyona uğramıştır (veya 8. ve 9. bazların duplikasyonu sonucu oluşmuştur). *A. kotschy*'de. 26. baz sitozin (C) iken, diğer taksonlarda guanin (G), timin (T) ve sitozin (C); 27. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve guanin (G); 29. baz timin (T) iken, diğer tüm taksonlarda adenin (A) ve timin (T); 30. baz adenin (A) iken diğer taksonlarda guanin (G) ve adenin (A); 44. baz adenin (A) ve 61. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda sitozin (C) olduğu gözlenmiştir. *A. kotschy*'nin çalışılan bireylerinde 60. baz bulunmazken (delesyona uğramıştır), bu baz tüm taksonlarda adenin (A); 74. baz adenin (A) iken, tüm taksonlarda sitozin (C) olarak saptanmıştır. Ayrıca *A. kotschy*'de 77. baz sitozin (C) iken; diğer taksonlarda oldukça değişiklik göstererek *A.*

tenerrima var. *tenerrima* ve *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* alttürlerinde ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. *A. kotschy* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici bazlarının ise 6., 7., 44., 60., 61., ve 74. bazlar olduğu belirlendi (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. kotschy* türüne ait bireylerde 6. ve 7. bazlar (C ve T) iken diğer tüm taksonlarda bu kısım bulunmamaktadır. 8. (C) ve 9. (T) bazların duplikasyonu sonucu oluşmuş olabileceği düşünülen bu kısım, bu takson için bilgi verici bölge halini almıştır. Yine *A. kotschy* taksonunun bireylerinde 26. (C), 27. (G), 29. (T), 30. (A), 44. (A), 60. (-), 61. (A), 74. (A), 77. (C) numaralı bölgelerde farklılaşmalar gözlenmiştir. Söz konusu bölgeler diğer taksonlarda 26. (G,T,C), 27. (T, G), 29. (A,T), 30. (G, A), 44. (C), 60. (A), 61. (C), 74. (C), 77. (C,A,T) olarak gözümüze çarpmıştır. (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

A. kotschy taksonuna ait çalışılan 3 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.5. *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (22., 23., 24., 25. 26., 27., 29., 30., 75., 77. Baz) Özellikleri

A. sylvestris subsp. *sylvestris* bireylerinde 22., 23., 24., 25. nolu bazlar bulunmazken (delesyonla yok olmuştur), tüm taksonlarda bu bazlar 22. timin (T) ve sitozin (C), 23. timin (T), 24. timin (T), 25. timin (T) olarak bulunmuştur. *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'de 26. baz sitozin (C) iken, diğer taksonlarda guanin (G), timin (T) ve sitozin (C); 27. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve guanin (G); 29. baz timin (T) iken, diğer tüm taksonlarda adenin (A) ve timin (T); 30. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve adenin (A); 75. baz *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'in dört bireyinde (T) ve iki bireyinde (C) iken, diğer tüm taksonlarda (C,A,T); *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'de 77. baz sitozin (C) iken; diğer taksonlarda oldukça değişiklik göstererek *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* alttürlerinde ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschy* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. Ayrıca, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonun sadece

kendisine ait bilgi verici bazlarının ise 23., 24., 25., ve 75. bazlar olduğu belirlendi (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonuna ait bireylerde 22., 23., 24. ve 25. bazlar mikro delesyona uğrayarak yok olmuşken, sözkonusu bazlar diğer tüm taksonlarda 22. (T, C), 23. (T), 24. (T), 25. (T), şeklindedir. Sözkonusu bazlarda meydana gelen ve yalnızca bu takson bireylerinde gözlenen mikro delesyonlar, bilgi verici bölge görevi görerek Şekil 3.3. te gösterdiğimiz filogenetik ağaçta dallanmaya sebep olmuştur. Yine 26. (C), 27. (G), 29. (T), 30. (A), 75. (T, C), 77. (C) numaralı bölgelerde de diğer taksonlardan farklı bazlar gözlenmiştir. Sözkonusu bölgeler diğer taksonlarda 22. (T, C), 23. (T), 24. (T), 25. (T), 26. (G, C), 27. (T, G), 29. (A, T), 30. (G, A), 75.(C,A,T), 77. (C,A,T) şeklindedir (Şekil 3.2, Tablo 3.4.).

A. sylvestris subsp. *sylvestris* taksonuna ait çalışılan 6 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.6. *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri

A. sylvestris subsp. *nemorosa*'nın çalışılan tüm bireylerinde 26. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda sitozin (C), timin (T) ve guanin (G); 27. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 29. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve adenin (A); 30. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G); *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireylerinde 31. baz bulunmazken (delesyonla yok olmuştur), tüm taksonlarda guanin (G) olduğu saptanmıştır. 77. baz *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireylerinin bir kısmında (7 bireyinde) sitozin (C), bir kısmında (5 bireyinde) ise timin (T) iken, diğer taksonlarda oldukça değişiklik göstererek *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* alttürlerinde timin (T), *A. kotschy* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'te sitozin (C) olduğu tespit edildi. Ayrıca, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun MT-1205 (Konya) ile MT-1106 (Amasya) numaralı bireylerinde 309. baz sitozin (C) iken; diğer *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireylerinde ve diğer tüm taksonlarda (*A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikhi* Osmaniye popülasyonu hariç) 309. bazın guanin (G)

olduğu gözlenmiştir. *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici bazı bulunmamaktadır (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonuna ait bireylerde bilgi verici bölgeler 26. (G), 27. (T), 29. (A), 30. (G), 31. (-), 77. (T,C), 309.(C,G) numaralı bazlarda görülmüş olup, diğer taksonlarla kıyaslandığında aynı bazlar 26.(G,T,C), 27.(T, G), 29 (A, T), 30.(A, G), 31. (G), 77.(C,A,T), 309.(G, C) yönde değişim gösterdikleri görülmektedir.

A. sylvestris subsp. *nemorosa* taksonuna ait çalışılan 12 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.7. *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri

A. lamprocarpa subsp. *lamprocarpa*'nın çalışılan tüm bireylerinde 26. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda sitozin (C), timin (T) ve guanin (G); 27. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 29. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve adenin (A); 30. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G) olarak değiştiği gözlenmiştir. Taksonların çoğunda 31. baz guanin (G) iken, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*'da (*A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonları ile benzer şekilde) bu bölge (baz) bulunmamaktadır. *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*'da 77. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda oldukça değişiklik göstererek *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis* ile *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschy*, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. Ayrıca *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*'da 309. baz sitozin (C) iken; tüm taksonlarda (*A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun MT-1205 (Konya) ile MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri ile *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye popülasyonları hariç) guanin (G) olarak gözlenmiştir. *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici bazı yoktur (Şekil 3.2.).

Özet Değerlendirme: *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* taksonunun bilgi verici bölgeleri 26. (G), 27. (T), 29. (A), 30. (G), 31. (-), 77. (T), 309.(C) numaralı bazlardaki

değişiklikler sonucu meydana gelmiş olup, diğer taksonlarla kıyaslandığında aynı bazlar 26.(C,T,G), 27.(G, T), 29 (A, T), 30.(G, A), 31. (G), 77.(C,A,T), 309.(C,G) yönde değişim gösterdikleri görülmektedir. Ayrıca 31. baz *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonları ile benzerlik göstererek mikro delesyona uğrayarak yok olmuş olup, bu baz diğer taksonlarda guanin (G) olarak gözlenmiştir. Yine 309. bazın *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* (Hatay) ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* (Osmaniye) popülasyonları ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun Konya ve Amasya popülasyonlarında benzer şekilde değiştiği gözlenmiştir (Şekil 3.2, Tablo 3.4).

A. lamprocarpa subsp. *lamprocarpa* taksonuna ait çalışılan 1 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.4.8. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Taksonunun Bilgi Verici Bölgelerinin (2., 26., 27., 29., 30., 31., 77., 309. Baz) Özellikleri

A. lamprocarpa subsp. *chelikii*'nin Karaman popülasyonu bireyinde 2. baz guanin (G) iken, *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin Osmaniye popülasyonu ve *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* taksonu dahil tüm taksonlarda timin (T) olarak görülmüştür. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin çalışılan tüm bireylerinde 26. baz guanin (G) iken, diğer taksonlarda sitozin (C), timin (T) ve guanin (G); 27. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda guanin (G) ve timin (T); 29. baz adenin (A) iken, diğer taksonlarda timin (T) ve adenin (A); 30. bazın guanin (G) iken, diğer taksonlarda adenin (A) ve guanin (G) olarak değiştiği gözlenmiştir. *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonları ile benzer şekilde, *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'de de 31. baz bulunmazken (delesyonla yok olmuştur), diğer tüm taksonlarda guanin (G) olduğu gözlenmiştir. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'de 77. baz timin (T) iken, diğer taksonlarda oldukça değişerek *A. tenerrima* var. *tenerrima* ve *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da adenin (A), *A. caucalis* var. *caucalis*, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın beş bireyinde timin (T), *A. kotschyi*, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın yedi bireyinde sitozin (C) olduğu tespit edildi. Ayrıca *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin Karaman popülasyonuna ait bireyde 309. bazın guanin (G) olduğu halde, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* Hatay popülasyonu ile *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye popülasyonu bireyleri ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun sadece MT-1205 (Konya) ile MT-1106 (Amasya) numaralı bireylerinde sitozin (C) olduğu

gözlenmiştir. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonun sadece kendisine ait bilgi verici baz 2. bazdır (Şekil 3.2.).

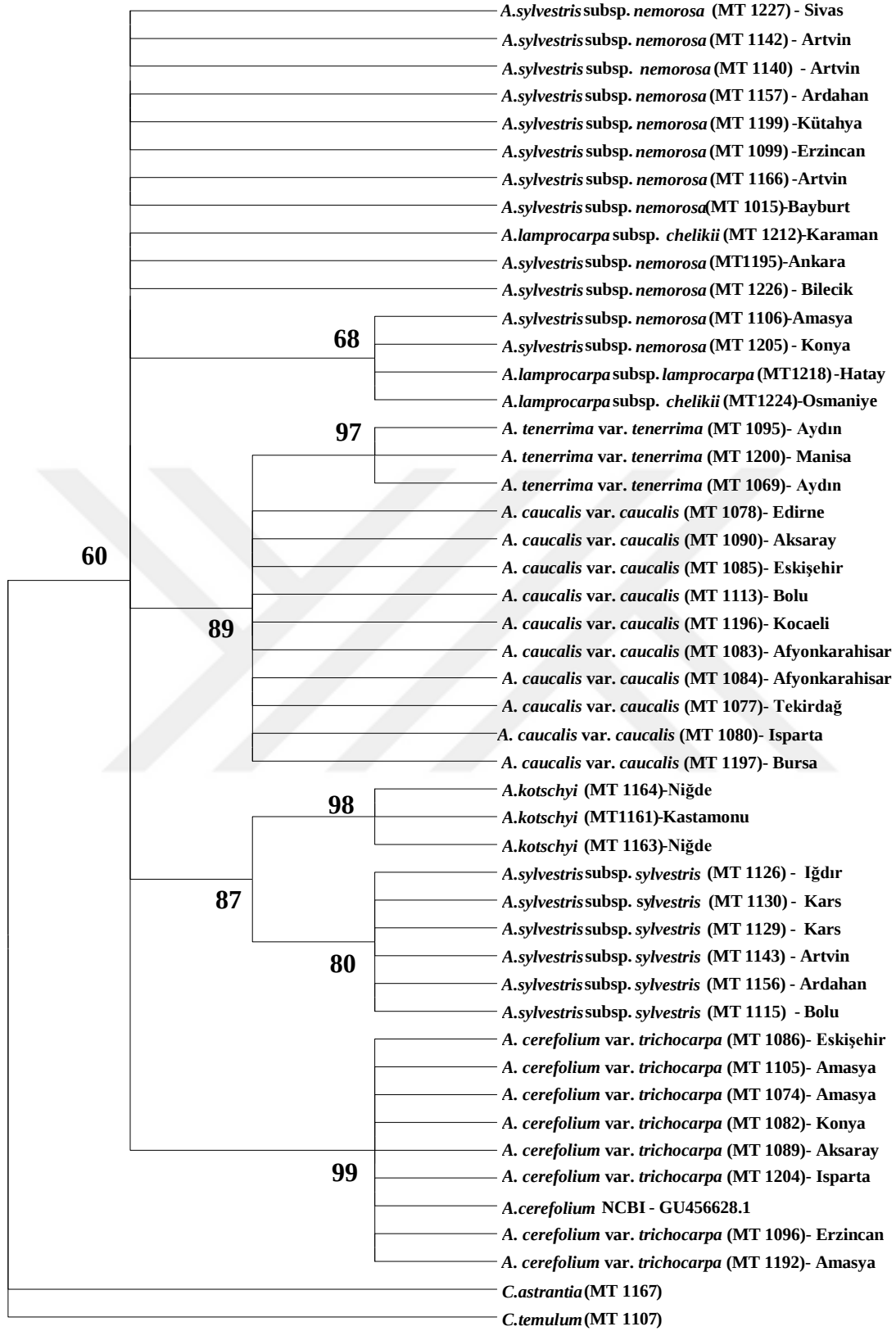
Özet Değerlendirme: *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonunun bilgi verici bölgeleri 2.(G, T), 26. (G), 27. (T), 29. (A), 30. (G), 31. (-), 77. (T), 309.(G, C) numaralı bazlarda gözlenmiş olup, diğer taksonlarla kıyaslandığında aynı bazlar 2.(T), 26.(G,T,C), 27.(T, G), 29 (T, A), 30.(G, A), 77.(C,A,T), 309.(C, G) yönde değişim gösterdikleri görülmektedir. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonunda 31. baz, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonları ile benzer şekilde mikro delesyona uğrayarak yok olmuştur.

A. lamprocarpa subsp. *chelikii* taksonuna ait çalışılan 2 bireyin *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimi ekler kısmında (Ek-1) verilmiştir.

3.4.5. Bireyler Arasındaki Filogenetik İlişkilerin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında dış gruplar da dahil sekans dizilimi belirlenmiş olan 10 taksona ait 48 bireyin sekans bilgileri Mega programında düzenlendikten sonra, programın önce “Models” menüsünden “Find Best DNA/Protein” basamağı kullanılarak bireyler arasındaki filogenetik ilişkiyi en iyi biçimde ifade edecek metotlar belirlenmeye çalışıldı. Verilen metotlar listesinde en düşük “BIC” (Bayesian Information Criterion) değerine “T92+G” (Tamura-3-parameter) metodunda rastlanıldı. T92+G’ye göre, bireyler arasındaki filogenetik ilişkileri görebilmek için Maximum Parsimony başta olmak üzere, Neighbor-Joining, UPGMA ve Maximum Likelihood gibi yöntemlerden herhangi biri kullanılarak filogenetik ağaç çizilebilir.

Tüm bireyler bazında Maximum Likelihood, Neighbor-Joining, UPGMA ve Maximum Parsimony yöntemlerinin her biri ayrı ayrı denendi, ancak çalıştığımız bireyler arasındaki evrimsel ve filogenetik ilişkiyi en iyi biçimde ortaya koyan yöntemin Maximum Parsimony yöntemi olduğuna karar verildi. Bu yöntemde bootstrap değeri 100 girilerek filogenetik ağaç çizildi. Elde edilen Filogenetik ağaç Şekil 3.3’de gösterilmektedir.



Şekil 3.3. Çalışılan *Anthriscus* taksonları ve bireyleri arasındaki filogenetik ilişkileri gösteren Maximum Parsimony ağacı

Kloroplast DNA'sının kodlanmayan *trnL3'-trnF* bölgesinin baz dizilimine dayandırılarak çizilen Şekil 3.3'deki filogenetik ağaçta;

- *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonunun %99'luk bootstrap değeri ile hiçbir taksonla aynı dalda bulunmaması ve bu taksonunun, *Anthiscus* seksiyonunun diğer iki taksonundan tamamen farklı bir kolda ve bağımsız olarak tek başına çıkması,

- A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonlarına ait bireylerin genel anlamda filogenetik ağaçta *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* alttürü (bize göre *A. nemorosa* türü) bireyleri arasında bir arada bulunmaları,

- A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürü Osmaniye ve Karaman populasyonlarından alınan bireylerin filogenetik ağaçta birbirlerinden ayrılmalrı,

- *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı iki bireyi dışındaki diğer tüm bireyleri ile *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Karaman populasyonundan alınan bireyinin filogenetik ağaçta politomi gösteren dallarda birlikte yer almaları,

- A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürü Osmaniye populasyonu bireyi ile *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürünün Hatay populasyonu bireyinin *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri ile birlikte filogenetik ağaçta %68'lik bir bootstrap değeri ile aynı kolda yanyana bulunmaları,

- *A. sylvestris* türüne ait alttürler olduğu düşünülen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireylerinin birbirinden uzakta olan farklı kollardan dallanmaları,

- Sect. *Cacosciadium*'a ait bir takson olan *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonu ile Sect. *Caroides*'e ait bir takson olan *A. kotschy* taksonlarının yakın kollarda çıkmaları oldukça ilginçtir ve bu önemli bulguların detaylı açıklamaları ve tartışmaları aşağıdaki "Sonuçlar ve Tartışma" bölümünde yapılmaktadır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Türkiye Florası (Davis, 1972) yazıldığı dönemde gerek sınırlı zaman gerekse sınırlı materyallerle çalışıldığı için taksonomik sınıflandırmada sadece morfolojik karakterler dikkate alınabilmiştir. Bu yüzden birçok cinsin türlerinde, hatta seksiyonlarında açığa kavuşturulamamış taksonomik sorunlar vardır. Bu durumda olan cinslerin problemlerinin saptanarak daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerekliliği taksonomistleri yeni revizyon ve monografların oluşturulması yönünde yoğun çabalara sevk etmiştir. Bu tarz problemler Apiaceae familyasına ait *Anthriscus* cinsinde de mevcuttur. Cins üyelerinin adları, sistematik pozisyonları günümüzde son yapılan çalışmalara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Anthriscus cinsi Türkiye Florası (Davis, 1972)'nda ve "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)" kitabında aynı türler olmak üzere, türaltı kategorileri olmayan toplam 8 türle temsil edildiği görülmektedir (Güner ve ark., 2012). Ancak, cins üzerinde yapılan iki taksonomik revizyon çalışması ile ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren bazı *Anthriscus* cinsi taksonlarının statü ve seviyeleri değiştirilmiş; bazı türlerin birleştirilmesi ya da alttür ve varyetelere ayrılmasıyla, cinsin takson sayısı artmış ve Revision of *Anthriscus* (Spalik, 1997) çalışması dikkate alındığında; *Anthriscus*'ların ülkemizde 7 tür olduğu, tür ve türaltı seviyede toplam 10 taksonla temsil edildiği ortaya çıkmaktadır (Tablo 4.1).

Türkiye'de yetişen *Anthriscus* cinsi taksonları üzerine en kapsamlı ve en son çalışma, Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK danışmanlığında, Mehmet TEKİN (2013) tarafından yapılmış "**Türkiye'de Yayılış Gösteren *Anthriscus* Pers. (Apiaceae/Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu**" başlıklı doktora tezi ile gerçekleştirilmiştir. Tekin ve Civelek (2013), *Anthriscus* cinsi taksonlarında morfolojik, anatomik, karyolojik, nümerik, palinolojik ve meyve yüzeyi ile ilgili mikromorfolojik araştırmalar yapmıştır. Yapılan çalışmada, morfolojik ve anatomik verilere dayandırılarak cinsin sistematik problemleri halledilmeye çalışılmıştır. Ancak, çözümlerin mutlak doğruluğu hususunda moleküler seviyede verilere de ihtiyaç duyulmuştur. Bu araştırma, söz konusu ihtiyaç dolayısıyla gerçekleştirilmiştir.

Bu araştırmada, Tekin ve Civelek (2013)'in revizyon araştırması kapsamında arazi çalışmalarında toplanmış olan bitki materyalleri kullanılmış, DNA izolasyonu tarafımızca yapılarak filogenetik ve sistematik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sürecinde

elde edilen veriler temel alınarak, *Anthriscus* cinsine ait taksonların türleşmelerini tamamlayıp tamamlamadıkları, hibritleşme ile aralarında gen akışı sağlayıp sağlamadıkları, her taksonun farklı populasyonları arasındaki genetik çeşitliliklerin olup olmadığı, taksonların birbirine olan genetik yakınlıkları veya uzaklıkları belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 4.1. Literatür kayıtlarında belirtilen (Davis, 1972; Spalik, 1997) ve revizyon çalışmasında (Tekin ve Civelek, 2013) ülkemizden tespit edilmiş *Anthriscus* taksonları

Türkiye Florası (Davis,1972)	Revision of <i>Anthriscus</i> (Spalik, 1997)	Türkiye’de Yayılış Gösteren <i>Anthriscus</i> Pers. (Apiaceae/Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu (Tekin ve Civelek, 2013)
	Seksiyon <i>Anthriscus</i>	Seksiyon <i>Anthriscus</i>
<i>A. caucalis</i>	<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>
<i>A. tenerrima</i>	<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>
<i>A. cerefolium</i>	<i>A. tenerrima</i> var. <i>leiocarpa</i>	-
<i>A. kotschyi</i>	<i>A. cerefolium</i> var. <i>cerefolium</i>	-
<i>A. ruprechtii</i>	<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>
<i>A. lamprocarpa</i>	Seksiyon <i>Caroides</i>	Seksiyon <i>Caroides</i>
<i>A. sylvestris</i>	<i>A. kotschyi</i>	<i>A. kotschyi</i>
<i>A. nemorosa</i>	<i>A. ruprechtii</i>	-
	Seksiyon <i>Cacosciadium</i>	Seksiyon <i>Cacosciadium</i>
	<i>A. lamprocarpa</i>	<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>
	-	<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>
	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>
	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>

Revizyon çalışmalarında, Türkiye’ de *Anthriscus* cinsi 3 seksiyona ayrılmıştır (Spalik, 1997; Tekin, 2013). Bu seksiyonlar ve içerdiği taksonlar Tablo 4.1’ de gösterilmektedir.

Kloroplast DNA’sının kodlanmayan *trnL3’-trnF* bölgesinin baz dizilimine dayanarak ve Mega programı 5.1 versiyonu kullanılarak, Maksimum Parsimony yöntemiyle filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 3.3). Filogenetik ağacın oluşumunda kullanılan moleküler çeşitlilik parametreleri bulgular kısmında belirtilmiştir (Tablo 3.3).

Çalışılan taksonların T, C, A ve G bazlarının oranları bakımından birbirinden çok farklı olmadığı, baz kompozisyonlarının hemen hemen benzer olduğu, bireylerdeki A-T

baz çifti oranının % 65,9 ve G-C baz çifti oranının % 31,1 olduğu, yani bireylerin A-T baz çifti bakımından daha zengin olduğu görülmüştür. Ayrıca, korunmuş bölge (C) sayısı 281, varyasyonlu bölge (V) sayısı 35, bilgi verici bölge (Pi) sayısı 24, homolog baz çifti (ii) sayısı 304, transitiyonel baz çifti (si) sayısı 4 ve transversiyonel baz çifti (sv) sayısı 4'dür.

Filogenetik ağaca göre; sect. *Anthriscus* içinde yer alan *A. caucalis*, *A. tenerrima* ve *A. cerefolium* türleri türleşmelerini tamamlamış ve kendi aralarındaki izolasyonlarını sağlamışlardır. *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonlarının baz dizilimleri incelendiği zaman; *A. caucalis* var. *caucalis*'in 26-27-29-30-37-77-292-293 numaralı bazlar olmak üzere toplam 8 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu, *A. tenerrima* var. *tenerrima*'nın ise 26-27-29-30-37-77-88-161-292-293 numaralı bazlar olmak üzere toplam 10 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2). Bu iki taksonun bilgi verici bölgeleri karşılaştırıldığında; bir çoğunun ortak bazlar olduğu ve bilgi verici baz pozisyonlarının benzer şekilde değiştiği gözlenmiştir. Bunun sonucu olarak da, *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonları Şekil 3.3'de gösterilen filogenetik ağacımızda da aynı koldan dallanarak % 89'luk bootstrap değeri ile birbirine çok yakın kardeş iki tür olduğu rahatlıkla söylenebilir.

Sect. *Anthriscus*'un üçüncü türü olan ve sadece bir varyete (var. *trichocarpa*) ile ülkemizde temsil edilen *A. cerefolium* da türleşmesini tamamlamış ve diğer türlerden izolasyonunu tamamen sağlamıştır (Tablo 4.2, Tablo 4.8.). *A. cerefolium* var. *trichocarpa* bireylerinin baz dizilimleri incelendiği zaman; 22-26-27-29-30-43-54-77-88-154-231-244-254 numaralı bazları olmak üzere 13 adet bilgi verici bölgesiyle en yüksek farklılaşma oranına sahip tek tür olarak gözümüze çarpmaktadır. Şekil 3.3. de gösterdiğimiz filogenetik ağaca bakıldığında ise % 99 luk bootstrap değeri ile hiçbir türle aynı dalda bulunmaksızın ağaçta bağımsız olarak yerini aldığı görülmektedir.

Anthriscus seksiyonuna ait taksonların baz kompozisyonları açısından gösterdikleri benzerlikler ve farklılıklar Tablo 4.2'de verilmektedir.

Tablo 4.2. *Anthriscus* seksiyonu bireylerinin bilgi verici bazlarının pozisyonları

Sect. <i>Anthriscus</i>	Bilgi Verici Bazların Pozisyonları																
	22	26	27	29	30	37	43	54	77	88	154	161	231	244	254	292	293
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	T, C	C	T, G	T	A	C	C	C	A	A	T	T	A	A	T	A	G
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	T	G	T	A	G	A	T	A	T	G	C	T	G	G	G	C	A
<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	T	G	T	A	G	A	T	A	A	T	C	C	G	G	G	C	A

Anthriscus seksiyonuna ait taksonların filogenetik ağaçta (Şekil 3.3) görülen dallanmalarını Tablo 4.2. açıklar niteliktedir. Örneğin, *Anthriscus* seksiyonunun üç taksonu olan *A. cerefolium* var. *trichocarpa*, *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* türlerine ait bilgi verici bölgeler karşılaştırıldığında: *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima*'nın seksiyona ait 17 adet bilgi verici bölgenin 14'ünde aynı baza sahip oldukları görülmektedir. Bu seksiyonun bir başka taksonu olarak kabul edilen *A. cerefolium* var. *trichocarpa*'da ise 17 adet bilgi verici bölgenin 15'inde bu iki takson ile farklılık göstermektedir ve sadece iki (22. ile 27. nolu bazlar) bilgi verici bölgede kısmen benzer baz kompozisyonuna sahip olduğu görülmektedir.

A. cerefolium türünün Sect. *Anthriscus*' dan ayrılması ve Rusya Florası (Poljakov, P.P., 1961)' nda olduğu gibi yeni bir seksiyon (sect. *Cerefolium*) yapılması gerektiği fikri Tekin ve Civelek (2017) tarafından öne sürülerek bir makale hazırlanmış ve yayınlanma aşamasındadır. Bu çalışmamız sonucunda oluşturulan filogenetik ağaçta *A. cerefolium* türünün % 99'luk bootstrap değeri ile hiçbir taksonla aynı dalda bulunmaması, Tablo 4.2'de görüldüğü gibi bilgi verici bazların *Anthriscus* seksiyonu içindeki diğer iki taksondan oldukça farklı olduğunun tespit edilmesi ve cinsin bütün taksonları için ortak bilgi verici bölge olan beş bazı temel alınarak düzenlenen Tablo 4.8'de de cins içinde hiçbir taksona yakınlığının görünmemesi; *A. cerefolium* türünün yeni bir seksiyona aktarılması fikrini destekler mahiyette moleküler kanıtlar olarak değerlendirilebilir.

Sect. *Cacosciadium*, *A.sylvestris* ve *A. lamprocarpa* türlerini içeren bir seksiyondur. Spalik (1997)'in bulguları da dikkate alınarak, Türkiye Florası'nda müstakil bir tür olan *A. nemorosa* türü, *A. sylvestris* türüne alttür olarak aktarılmış (Tekin ve Civelek, 2013) ve böylece *A. sylvestris* türü ülkemiz sınırlarında *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* olmak üzere iki alt türe ayrılmıştır. Bu seksiyona ait *A. lamprocarpa* türü için yeni bir alttür Tekin ve Civelek (2016) tarafından yayınlanmış ve böylece bu tür de Türkiye'de *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* olmak üzere iki alttüre sahip olmuştur.

A. sylvestris subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'ya ait bilgi verici bazlar dikkate alınarak Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 oluşturuldu. Oluşturulan bu tablolarda *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'e ait bilgi verici bölgelerin baz dizilimleri ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'ya ait bilgi verici bölgelerin baz dizilimleri karşılaştırılarak özellikler incelendiği zaman; *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* alttürünün bunların ise 22-23-24-25-26-27-29-30-75-77 numaralı bazlar olmak üzere toplam 10 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu görülmektedir; *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* alttürünün ise 26-27-29-30-31-77-309 numaralı bazlar olmak üzere toplam 7 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 4.3 *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'e ait bilgi verici bazların pozisyonları

Çalışılan takson	Çalışılan birey sayısı	Bilgi verici baz sayısı	Kendisine özgü bilgi verici baz sayısı	Bilgi verici bazların pozisyonları									
				22	23	24	25	26	27	29	30	75	77
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	6	10	4	■	■*	■*	■*	C	G	T	A	T 4*	C
Diğer taksonlar				T, C	T	T	T	G, C	T, G	A, T	G, A	T, C, A	T, C, A

* Sadece bu taksona ait olan bazlar

Tablo 4.4. *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'ya ait bilgi verici bazların pozisyonları

Çalışılan takson	Çalışılan birey sayısı	Bilgi verici baz sayısı	Kendisine özgü bilgi verici baz sayısı	Bilgi verici bazların pozisyonları						
				26	27	29	30	31	77	309
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	12	7	0	G	T	A	G	I	T5 C7	G1 C2
Diğer taksonlar				G C	T G	A T	G A	G	T C A	G C

Tablo 4.4'te görüldüğü gibi, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'ya ait tüm bireylerin 7 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu, ancak bireylerin bilgi verici bölgelerinin baz kompozisyonları birbirlerinden çok farklı olmadıklarından filogenetik ağaçta da bir arada bulundukları ve ayrılan bir dallanma gösteremedikleri görülmüştür (Şekil 3.3.). Ayrıca, maksimum parsimony yöntemi bootstrap analizi ile çizdiğimiz filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3.) *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireylerinin büyük bölümünde bootstrap değeri % 50'nin altında kaldığı için kullandığımız Mega programı bu bireylerin bulunduğu dalları çökerterek belirgin şekilde basamaklanmış bir dallanma göstermesini engellemiştir. Bunun nedeni, oluşacak olan muhtemel dalların güvenli dallar olmayacağıdır. Çöken dal sonucu oluşan basamaklanmamış dallanma ise politomi olarak adlandırılır. Politomi varlığı da yine *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın türleşmesini tamamlamamış olduğunu ve başka taksonlardan (muhtemelen de filogenetik ağaçta birbirine karışmış vaziyette olan *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *cheliki*'den) gen akışının olduğunun bir göstergesidir (Tablo 4.7).

Filogenetik ağaçta *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* alttürü bireylerinin, *A. sylvestris* türünün diğer alttürü olan *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireyleri ile birbirlerinden tamamen ayrılmalrı, bu iki alttürün *trnL3'*-*trnF* bölgesinin ayırd edici bölgelerinin ve baz diziliminin çok farklı olduklarını, alt türlerin (aslında türlerin) sınırlarının iyi tespit edilmiş olduğunu belirtmektedir. Bu durum, bazı bilim adamlarınca *A. sylvestris* türüne ait alttürler olarak kabul edilen bu iki grubun, aslında türleşmelerini tamamlamış olduklarını, morfolojik açıdan benzer olan bu sibling türlerin genetik açıdan birbirlerinden oldukça iyi izole olduklarını, hiçbir şekilde aralarında hibritleşmelerin olmadığını ve diğer bazı bilim adamlarınca kabul edildiği gibi *A. sylvestris* ve *A. nemorosa* olmak üzere farklı iki tür

olduklarını göstermektedir. Elde ettiğimiz verilere dayanarak, bu iki alttürün Türkiye Florası'nda olduğu gibi yeniden iki ayrı tür yapılabileceğini söyleyebiliriz (Tablo 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7).

Bulgularımız, aynı zamanda *A. nemorosa*'nın *A. sylvestris*'den ziyade *A. lamprocarpa*'nın iki alttürüne daha yakın olduğunu da ortaya koymaktadır (Tablo 4.7). Bazı bilim adamları tarafından aynı türün iki alttürü olarak kabul edilen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* alttürü bireyleri ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* bireyleri ayırdedici bölgeler ve bu bölgelerdeki baz kompozisyonları açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında herhangi bir genetik yakınlık ve hibritleşme olduğuna dair ipucu görülmezken; *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* türü ile *A. lamprocarpa* türünün her iki alttürü arasında ayırdedici bölgeler açısından genetik yakınlık bulunması çok enteresandır. Bu taksonlar arasındaki genetik benzerliğin muhtemel nedenlerinden birisi; *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* ile *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonları arasında hibritleşmeler olabilir.

A. lamprocarpa subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'ye ait bilgi verici bazlar dikkate alınarak Tablo 4.5 ve Tablo 4.6 oluşturuldu. *A. lamprocarpa* türünün her iki alttüründe, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* alttüründe olduğu gibi 26., 27., 29., 30., 31., 77. ve 309. bazların ortak bilgi verici bölge olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6). Ayrıca, *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*'nin sadece Karaman popülasyonu bireyinde 2. baz ilave bilgi verici bölgedir (Tablo 4.5, Tablo 4.6 ve Tablo 4.7).

Tablo 4.5. *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa*'ya ait bilgi verici bazların pozisyonları

Çalışılan takson	Çalışılan takson sayısı	Bilgi verici baz sayısı	Kendisine özgü bilgi verici baz sayısı	Bilgi verici bazların pozisyonları						
				26	27	29	30	31	77	309
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	1	7	0	G	T	A	G	-	T	C
Diğer taksonlar				G, C	T, G	A, T	G, A	G	T, C, A	C, G

Tablo 4.6. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* 'ye ait bilgi verici bazların pozisyonları

Çalışılan takson	Çalışılan takson sayısı	Bilgi verici baz sayısı	Kendisine özgü bilgi verici baz sayısı	Bilgi verici bazların pozisyonları							
				2	26	27	29	30	31	77	309
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	2	8	1	G* T	G	T	A	G	T	T	G1, C1
Diğer taksonlar				T	G, C	T, G	T, A	G, A	G	T, C, A	C, G

*Sadece bu taksona ait olan bazlar

A. lamprocarpa türünün bilgi verici bölgelerini değerlendirecek olursak (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6); Hatay'daki *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürü bireyi ile Osmaniye'deki *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürü bireyi ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireylerinin 26., 27., 29., 30., 31., 77. ve 309. bazlarının tamamen aynı yönde bir değişim gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.2 ve 3.3, Tablo 4.4, 4.5 ve 4.6). Bunun sonucu olarak da söz konusu bu üç taksona ait bireyler Şekil 3.3.'de göstermiş olduğumuz filogenetik soy ağacımızda %68'lik bir bootstrap değeri ile aynı kolda çıkarak birbirine benzer bulunmuştur. *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürünün Karaman popülasyonuna ait bireyin, diğer iki *A. lamprocarpa* (*A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye ve *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* Hatay) popülasyonundan baz kompozisyonu farklı olan bilgi verici bölgeleri ise 2., 31. ve 77. bazlardır (Şekil 3.2 ve 3.3, Tablo 4.4, 4.5 ve 4.6). Bazlardaki bu farklılıklar nedeniyle, Karaman'da bulunan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* popülasyonu bireyi; *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye ve *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* Hatay popülasyonları bireylerinden nispeten uzak, ama *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* popülasyonlarına ait bireylere daha yakın çıkmıştır (MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri hariç). Karaman'da bulunan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* popülasyonundan alınan birey ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri dışındaki diğer tüm bireyleri; bilgi verici bazlardaki benzerlikler nedeniyle, filogenetik ağaçta politomi gösteren dallarda birlikte yer almıştır (Şekil 3.3.).

Ayrıca, *Cacosciadium* seksiyonuna ait taksonların ortak bilgi verici bölgelerine ait baz kompozisyonları açısından gösterdikleri benzerliklere ve farklılıklara göre de Tablo 4.7 oluşturulmuştur.

Tablo 4.7. *Cacosciadium* seksiyonu bireylerinin bilgi verici bazlarının pozisyonları

Sect. <i>Cacosciadium</i>	Bilgi Verici Bazların Pozisyonları												
	2	22	23	24	25	26	27	29	30	31	75	77	309
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikai</i> (Karaman)	G	T	T	T	T	G	T	A	G	-	A	T	G
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikai</i> (Osmaniye)	T	T	T	T	T	G	T	A	G	-	A	T	C
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i> (Hatay)	T	T	T	T	T	G	T	A	G	-	A	T	C
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	T	T	T	T	T	G	T	A	G	-	A	T5 C7	G10, C2,
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	T	-	-	-	-	C	G	T	A	G	T4, C2	C	G

Oluşturulan Tablo 4.7 incelendiği zaman *A. lamprocarpa* türünün Karaman popülasyonu bireyinin, türün diğer Osmaniye ve Hatay popülasyonları bireylerinden 2. ve 309. bazlar açısından farklılıklar gösterdiği görülürken, diğer Osmaniye ve Hatay popülasyonlarının bireyleri bilgi verici bazların tümü açısından tamamen benzerlik gösterdiği görülmektedirler. *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonunun bütün popülasyonlarının bireyleri, 77. ve 309. bazlar açısından *A. lamprocarpa* türünün üç popülasyonunun bireylerinden kısmen farklılık gösterirken, *A. lamprocarpa* türünün bütün bireylerinde delesyona uğrayan 31. baz, *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* bireylerinde guanindir (G). Aynı türün alttürleri kabul edilen *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* ve *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonları bilgi verici bazlar ve bu bazların pozisyonu açısından kıyaslanmayacak kadar farklılıklar göstermektedirler.

Anthriscus cinsinin en problemli seksiyonu olarak tespit ettiğimiz Sect. *Cacosciadium*'un iki türü olan *A. sylvestris* ve *A. lamprocarpa* ve bu türlerin türaltı taksonları ile ilgili olarak filogenetik ağaçta;

-*A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* taksonlarına ait bireylerin, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* alttürü (bize göre *A. nemorosa* türü) bireylerinin bir arada bulunmaları,

-*A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürü Osmaniye ve Karaman populasyonlarından alınan bireylerin filogenetik ağaçta birbirlerinden ayrılmaları,

-*A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Karaman populasyonundan alınan birey ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* 'nın MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri dışındaki diğer tüm bireylerinin filogenetik ağaçta politomi gösteren dallarda birlikte yer almaları ve

-*A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürü Osmaniye populasyonu bireyi ile *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürünün Hatay populasyonu bireyinin *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* 'nın MT-1205 (Konya) ve MT-1106 (Amasya) numaralı bireyleri ile birlikte filogenetik ağaçta %68'lik bir bootstrap değeri ile aynı kolda yanyana bulunmaları, yukarıda da anlatıldığı gibi tamamen bilgi verici bölgeler ve bu bölgelerdeki baz kompozisyonları ile uyumlu görünmektedir.

Tekin ve Civelek (2016) tarafından yeni bir varyete olarak yayınlanan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* 'nin Osmaniye populasyonu ile *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* Hatay populasyonları genetik açıdan birbirlerine yakın olduğunu ve *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* 'nin Karaman populasyonun bireyinin ise bu iki populasyonun bireylerinden genetik açıdan eşit derecede farklı ve uzak olduğunu saptadık. Türkiye'de üç lokaliteden bilinen *A. lamprocarpa* türünün Hatay ve Osmaniye populasyonları *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürünü, Karaman populasyonu ise sadece *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürünü temsil ettiği gerçeğini de moleküler seviyedeki bulgularla ispatlamış bulunmaktayız. . Bunun bir sonucu olarak, *A. lamprocarpa* türünün Türkiye'de bilinen üç populasyonunun sistematik açıdan yeniden düzenlenmesi gerektiğini de bulgulamış olduk. Populasyonların sistematik açıdan yeniden düzenlenmesi yapıldığında, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürüne dahil edilecek olan Osmaniye ile Hatay populasyonları arasında coğrafik, morfolojik ve genetik farklılıklar olması nedeniyle, bu iki populasyon *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürüne bağlı iki farklı varyete yapılması gerektiğini de bulmuş olduk. Teklif ettiğimiz müstakbel düzenleme, bu türün populasyonları bağlamında aşağıda belirtilen fitocoğrafik ve ekolojik bilgilerimiz ile de uyum göstermektedir.



Şekil 4.1. *A. lamprocarpa* türünün Türkiye’de bilinen popülasyonları (Orijinal)

(A : Hatay populasyonu, B : Osmaniye populasyonu ve C : Karaman populasyonu)

A. lamprocarpa türü bir Doğu Akdeniz elementi olup sınırlarımız dışındaki yayılış alanı Filistin, İsrail, Suriye ve Ürdün’dür. Bilindiği gibi taksonların yayılış alanlarının en dış noktaları farklılaşmak ve çeşitlenmek açısından kritik yerlerdir. Ülkemiz, bu türün yayılış alanının en kuzey ucunu teşkil etmektedir (Şekil 3.4). Muhtemelen Suriye tarafından sınırlarımıza giriş yapmış olan *A. lamprocarpa* türüne ait popülasyonlar yurdumuzun içine doğru yayıldıkça, Doğusu ve Batısı arasında topoğrafik ve ekolojik farklılıklar bulunan Anadolu Diyagonali’nin varlığı sebebiyle birbirlerinden farklılaşmaya başlamışlardır. Anadolu Diyagonali, bitkilerin Türkiye’deki yayılışları bakımından önemli bir fiziksel ve iklimsel bariyer fonksiyonu gören bir dizi sıra dağlar hattıdır. *A. lamprocarpa* türünün Anadolu Diyagonali’nin Akdeniz Bölgesi tarafındaki çatalı arasında yer alan Hatay ve Osmaniye popülasyonları arasında daha fazla olan gen akışına bağlı olarak daha fazla benzerlik görülürken, fiziksel ve iklimsel bariyerlerin etkileri nedeniyle, yukarıda anlatılan bir önceki duruma göre daha az gen akışına bağlı olarak da Diyagonal’in batısında yer alan Karaman popülasyonunda, Hatay ve Osmaniye popülasyonlarından biraz daha fazla genetik ve morfolojik farklılaşma olmuştur.

Sect. *Caroides*’in Türkiye’deki tek türü olan *A. kotschy* türünün bilgi verici bölgelerine baktığımız zaman, 6-7-26-27-29-30-44-60-61-74-77 numaralı bazlar olmak üzere toplam 11 adet bilgi verici bölgeye sahip olduğu ve 6., 7., 44., 60., 61., 74. nolu bazlar olmak üzere kendine has toplam 6 bilgi verici bölgeye sahip olduğu görülmektedir (Tablo 3.4.). *A. kotschy* türü 11 adet bilgi verici bölgesi ile *A. cerefolium* var. *trichocarpa*

‘dan sonra en yüksek farklılaşma oranına sahip ikinci tür olarak gözümüze çarpmaktadır. *A. kotschyi* türü Şekil 3.3. de gösterdiğimiz filogenetik soy ağacına göre aynı türün bireyleri arasında uyumlu %98 lik bootstrap değeri ile türleşmesini tamamlamış ve türler arası izolasyonu sağlamıştır.

Bu seksiyona ait olan *A. rupretchi* türü Türkiye Florası’nda ve Spalik (1997) çalışmasında ülkemiz sınırlarında bulunduğu söylenmesine rağmen, Tekin ve Civelek (2013) tarafından ülkemizde yapılmış olan revizyon çalışması kapsamında ülkemiz sınırlarında yetiştiği söylenen lokalitelerde bulunamadığından ve bizim çalıştığımız DNA bölgesi de daha önce çalışılmış olmadığından, analizlerimize dahil edilme imkanı bulunamamıştır.

Anthriscus cinsinin bütün taksonları için ortak bilgi verici bölge olan beş bazı temel alınarak Tablo 4.8 hazırlanmıştır. Tablo 4.8’in verileri ile Şekil 3.3’deki filogenetik soy ağacından elde edilen veriler birbirleri ile son derece uyumlu bulunmaktadır. Türkiye’deki *Anthriscus* cinsi taksonlarının % 60’luk bootstrap değeri ile aynı dal üzerinde yer aldıklarını ve monofiletik olduklarını görmekteyiz (Şekil 3.3).

Oluşturulan bu tabloya göre Sect. *Anthriscus*’a ait taksonlar olan *A. caucalis* var. *caucalis* ve *A. tenerrima* var. *tenerrima* taksonlarının ortak bilgi verici bazlarının aynı yönde değiştiği (77. baz hariç) ve buna paralel olarak filogenetik soy ağacında aynı koldan dallanarak birbirine çok yakın kardeş iki tür oldukları görülmekteyken; aynı seksiyonun üçüncü taksonu olan *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonunun ortak bilgi verici bazlarının diğer iki taksondan tamamen farklı olduğu ve buna bağlı olarak da filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3) hem aynı seksiyonun taksonlarından hemde cinse ait diğer seksiyonlardan tamamen farklı bir kolda ve bağımsız olarak tek başına yer almaktadır. Bu nedenle daha önce de belirttiğimiz gibi *A. cerefolium* var. *trichocarpa* taksonunun mevcut seksiyonlardan farklı bir seksiyona (sect. *Cerefolium*) aktarılması gerektiği söylenebilir.

Tablo 4.8 *Anthriscus* cinsine ait tüm taksonların ortak bilgi verici bazlarının pozisyonları

<i>Anthriscus</i> Cinsi Taksonları	Ortak Bilgi Verici Bazların Pozisyonları				
	26	27	29	30	77
<i>A. cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	C,T	T, G	T	A	A
<i>A. caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	G	T	A	G	T
<i>A. tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	G	T	A	G	A
<i>A. kotschy</i>	C	G	T	A	C
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	G	T	A	G	T
<i>A. lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	G	T	A	G	T
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	G	T	A	G	T5, C7
<i>A. sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	C	G	T	A	C

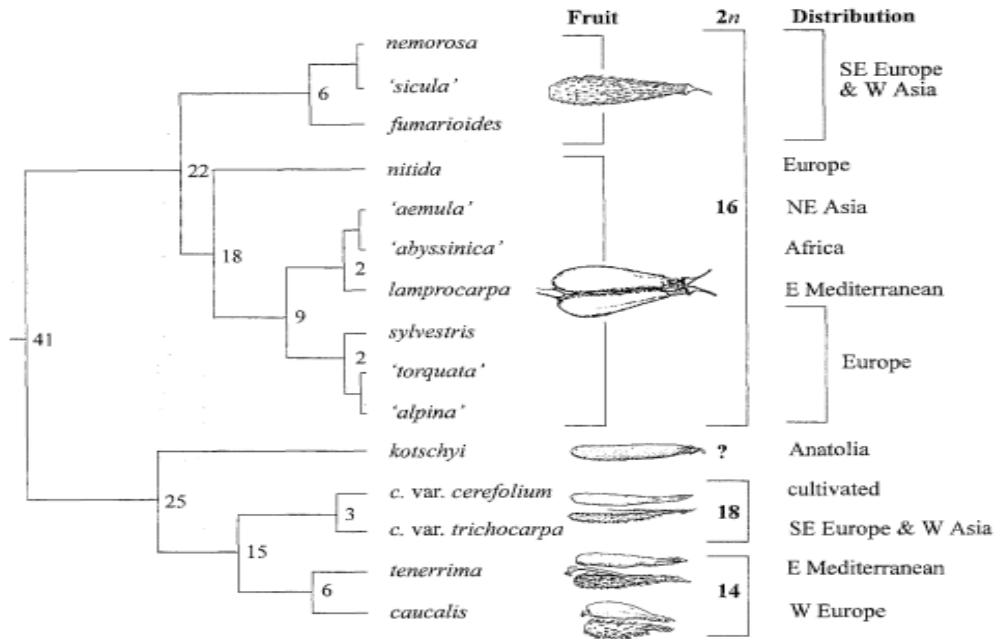
Yine Tablo 4.8 dikkatle incelendiği zaman Sect. *Cacosciadium*'a ait taksonlar olan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii*, *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonlarının ortak bilgi verici bazların kompozisyonlarının tamamen aynı olduğu, ancak kendine özgü bilgi verici bazları da dikkate alınarak değerlendirildiği zaman bu üç taksonun kendi aralarında muhtemelen hibritleşmelerle dikey gen akışı gösterdiği ve filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3) politomi gösteren dallarda birlikte bulunduğu saptanmıştır. Bütün bu verilere dayanarak bu üç taksonun ait olduğu *A. lamprocarpa* ve *A. nemorosa* (*A. sylvestris* subsp. *nemorosa*) türleri arasında henüz mutlak bir genetik izolasyonun olmaması nedeniyle aralarında bir gen akışının devam ettiği ve kendi türleşmelerini neticelendirememiş oldukları söylenebilir.

Sect. *Cacosciadium*'a ait bir takson olan *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* taksonu ile Sect. *Caroides*'e ait bir takson olan *A. kotschy* taksonlarının ise ilginç bir şekilde filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3) yakın kollarda çıkması, Tablo 4.8'de de görülen ortak bilgi verici bazların kompozisyonlarının tamamen aynı olmasından kaynaklandığı görülmektedir.

Ayrıca, *A. sylvestris* türüne ait alttürler olduğu düşünülen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonlarının ortak bilgi verici bazların kompozisyonunun birbirlerinden tamamen farklı olması ve buna bağlı olarak da filogenetik

soy ağacında (Şekil 3.3) birbirinden uzakta farklı kollardan dallanması; bu iki taksonun genetik olarak birbirinden uzak olduğunu ve Türkiye Florası'nda olduğu gibi yeniden iki ayrı tür yapılması gerektiği fikrini yeniden düşündürmektedir.

Anthriscus taksonlarının karmaşık taksonomik konumlarını çözmek adına Spalik 1996 yılında morfolojik ve karyolojik verileri kullanarak bir sınıflandırma yapmıştır. Morfolojik veriler ve kromozom sayılarından yola çıkarak bir fenogram çizmiş (Şekil 4.2) ve çizmiş olduğu fenogramın verileri ile bizim moleküler verileri kullanarak çizmiş olduğumuz filogenetik soy ağacı (Şekil 3.3) ile uyumlu bulunmuştur. Spalik'in çizdiği fenogramda sect. *Anthriscus*'un taksonlarından olan *A. tenerrima* ile *A. caucalis*, bizim verilerimizle uyumlu olarak aynı koldan dallanmış, seksiyonun üçüncü taksonu olan *A. cerefolium* ise bu iki taksondan farklı olarak tek başına çıkmıştır. Yine *A. sylvestris* ve *A. nemorosa* taksonları da fenogramda (Şekil 4.2) birbirlerinden ayrı kollarda çıkmış, bu durum bizim verilerimizle de desteklenmiştir. Ancak bizim çizmiş olduğumuz filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3) *A. lamprocarpa* taksonları *A. nemorosaya* daha yakın çıkmışken, Spalik'in çizmiş olduğu fenogramda ise bizim verilerimizden farklı olarak *A. sylvestris*'e daha yakın çıktığı gözlenmiştir. Ayrıca Spalik, çalışılan örnek sayısının az olduğunu belirterek *Anthriscus* taksonlarının problemlili sistematik konumuna katkı sağladığını belirtmiş, ancak yinede tam olarak çözümlenememiş olduğunu ifade etmiştir (Spalik 1996).



Şekil 4.2. *Anthriscus* cinsine ait fenogram (Spalik, 1996)

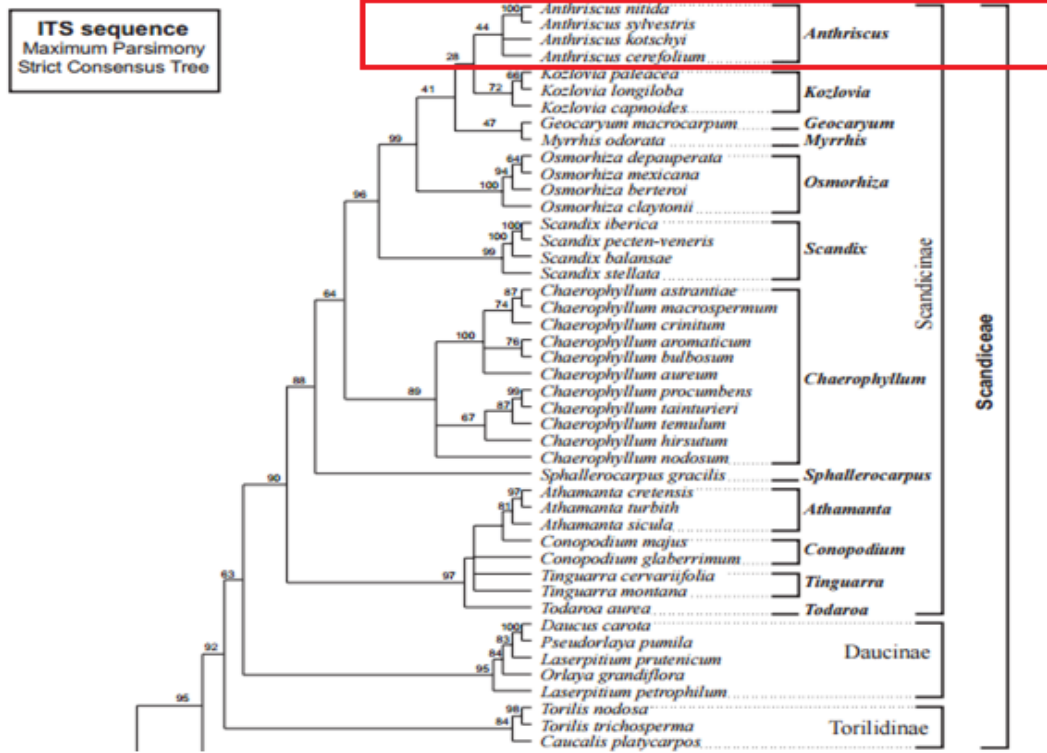
Downie ve arkadaşlarının *Anthriscus* cinsinin de yer aldığı Scandiceae tribusuna ait cinslerle ilgili nüklear DNA ITS sekansları kullanılarak yapmış oldukları bir başka çalışmada ise türler arası ilişkilerin belirsiz olduğunu söylemiştir. Tek yıllık iki tür olan *A. caucalis* ile *A. cerefolium*'un filogenetik ağaçta ilgisiz durduğundan bahsetmiştir. Bu çalışmada, elde ettiğimiz sonuçlar da bu iki türün yakın olmadığını göstermektedir (Downie ve ark., 2000).

A. sylvestris'in parafiletik olduğunu, *A. lamprocarpa*, *A. schmalhauseni*, ve *A. nitida* türlerinin *A. sylvestris*'ten köken aldığını belirtmişlerdir. *Anthriscus* cinsinin 3 seksiyonundan biri olan *Anthriscus* seksiyonunun, 3 tek yıllık türü olan *A. caucalis*, *A. cerefolium* ve *A. tenerrima*'yı kapsadığını, elde ettikleri ITS sekans sonuçlarına göre bu seksiyonun polifiletik olduğunu, çünkü *A. caucalis*, *A. tenerrima* ve *A. cerefolium*'un yakından ilişkili görünmediğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise *A. caucalis* ve *A. tenerrima* türleri birbirleri ile ilişki olup, bu seksiyonun *A. cerefolium* türü hem seksiyon içindeki bu iki türle hemde diğer seksiyonlardaki taksonlarla uzak görünmektedir. Benzer şekilde *A. sylvestris* içindeki ilişkilerin de henüz çözümlenebilir durumda olmadığından bahsetmektedir (Şekil 4.3) (Downie ve ark., 2000). Bizim çalışmamızda, *A. sylvestris* türüne ait alttürler olduğu düşünülen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ile *A. sylvestris* subsp. *nemorosa* taksonlarının ortak bilgi verici bazların kompozisyonunun birbirlerinden tamamen farklı olduğunu ve buna bağlı olarak da filogenetik soy ağacında (Şekil 3.3) birbirinden uzakta farklı kollardan dallandığını; bu iki taksonun genetik olarak birbirinden uzak olduğunu ve Türkiye Florası'nda olduğu gibi yeniden iki ayrı tür yapılması gerektiği sonucuna varmış bulunmaktayız. Ayrıca, *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın *A. sylvestris* subsp. *sylvestris*'den ziyade *A. lamprocarpa*'nın iki alttürüne daha yakın ve aralarında hibritleşmeler olduğunu kanıtlamış bulunmaktayız.



Şekil 4.3. *Anthriscus* cinsinin de içinde yer aldığı filogenetik ağaç (Downie ve ark., 2000)

Spalik ve arkadaşlarının 2001 yılında yapmış olduğu bir başka çalışmada, *Anthriscus* cinsinin de yer aldığı Scandiceae tribusunun yapılan tüm analizlerde monofiletik olduğunu, ve Scandicinae, Daucinae, Torilidinae alt sınıflarına tekabül eden üç ana soy içerdiğini göstermiştir (Spalik ve ark., 2001). Yine yapılan bu çalışmada *Anthriscus*, *Kozlovia*, *Gonocaryum*, *Myrrhis* ve *Osmorhiza* cinslerinin %99 bootstrap değeri ile tek bir kladda toplandığı görülmektedir (Şekil 4.4). Bizim çalışmamızda ise Türkiye'deki *Anthriscus* cinsi taksonlarının % 60'luk bootstrap değeri ile aynı dal üzerinde yer aldıkları ve monofiletik oldukları tespit edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 4.4. *Anthriscus* cinsinin de içinde yer aldığı filogenetik ağaç (Spalik ve ark., 2001)

5. ÖNERİLER

Bu tez kapsamında Türkiye'de yetişen *Anthriscus* cinsine ait taksonlar arasındaki akrabalık ilişkileri filogenetik yönden belirlenmeye çalışıldı. Materyal olarak daha önce Tekin ve Civelek (2013) tarafından yapılan revizyon çalışması için toplanan bitki örnekleri kullanılarak, onların yapmış olduğu çalışmalara ilave, moleküler tabanlı bir bakış açısı getirildi ve cinsin sistematik-filogenetik problemlerinin en doğru ve kesin çözümü için veriler sağlandı. Bu çalışmayla, *Anthriscus* taksonlarının ayrımında kullanılacak kloroplast DNA'sına ait yeni moleküler karakterler belirlendi. Türkiye'de yetişen *Anthriscus* cinsi taksonlarının moleküler özellikleri ilk defa bu çalışma ile ayrıntılı olarak ortaya konulmaya çalışıldı.

Bu çalışma ile vardığımız sonuçlar çerçevesinde *Anthriscus* cinsi taksonları ile ilgili üç önerimiz bulunmaktadır :

1. Bulgularımız, bazı bilim adamlarınca ortaya atılan *A. cerefolium* türünün Sect. *Anthriscus*'dan ayrılması ve sect. *Cerefolium*'a aktarılması gerektiği fikrini desteklemekte ve bu düzenlemenin yapılmasını zorunlu kılmaktadır.
2. Tekin ve Civelek (2016) tarafından yeni yayınlanan *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* Osmaniye populasyonunun gerçekte *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürüne dahil edilmesi gerekmektedir. Böylece Türkiye'de üç lokaliteden bilinen *A. lamprocarpa* türünün Hatay ve Osmaniye populasyonları *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürünü, Karaman populasyonu ise sadece *A. lamprocarpa* subsp. *chelikii* alttürünü temsil ettiği gerçeği ortaya çıkmaktadır. Ancak, teklif ettiğimiz bu yeni düzenlemeyle *A. lamprocarpa* subsp. *lamprocarpa* alttürüne dahil edilecek olan Osmaniye populasyonları ile bu alttürün Hatay populasyonları arasında morfolojik ve genetik farklılıklar olması nedeniyle, bu alttüre bağlı iki varyete yapılması daha doğru olacaktır. *A. lamprocarpa* türü için teklif ettiğimiz bu düzenleme, bu türün populasyonları bağlamında yukarıda anlatılan fitocoğrafik ve ekolojik bilgilerimiz ile de uyum göstermektedir (Şekil 4.1).
3. Bazı bilim adamlarınca *A. sylvestris* türüne ait alttürler olarak kabul edilen *A. sylvestris* subsp. *sylvestris* ve *A. sylvestris* subsp. *nemorosa*'nın, aslında türleşmelerini tamamlamış olduklarını, genetik açıdan birbirlerinden iyi izole olduklarını, hiçbir şekilde aralarında hibritleşmelerin olmadığını ve *A. nemorosa*'nın DNA sekans özellikleri bakımından *A. sylvestris*'ten ziyade *A.*

lamprocarpa'ya daha yakın olduğunu tespit ettik. Bu nedenle, bu iki doğal grup diğer bazı bilim adamlarınca kabul edildiği gibi *A. sylvestris* ve *A. nemorosa* olmak üzere farklı iki tür yapılmalıdır.

Taksonların akrabalık ve filogenetik ilişkilerinin, benzerlik ve farklılıklarının, varyasyonlarının arka planında DNA sekans özellikleri bulunmaktadır. Tez çalışmamızda da gördüğümüz gibi, sistematik ve filogenetik problemleri çözmek için yapılacak revizyon ve monograf araştırmalarında taksonların DNA sekans özellikleri de mutlaka dikkate alınmalıdır.

Bu çalışmayla, *Anthriscus* cinsinin ancak moleküler seviyedeki verilerle en doğru ve kesin bir şekilde çözülebilecek problemlerine ışık tutulmaya çalışıldı. Bu sayede taksonların birbirine olan genetik yakınlığı ve uzaklığı hakkında yorum yapılabilirdi, türler arası akrabalık ve sistematik ilişkiler tespit edildi. Çalışma sonunda cinse ait ülkemiz popülasyonlarıyla ilgili yeni *trnL-F* haplotipleri genbank veri bankasına kazandırıldı, türlere ait genetik farklılaşmaların seviyesi ile genetik çeşitlilik ve farklılaşmanın modelleri belirlendi ve 2023'te yeniden yazılması planlanan Resimli Türkiye Florası'na katkıda bulunuldu. Ayrıca, tüm Dünya'da APG (The Angiosperm Phylogeny Group) gibi topluluklar tarafından Angiosperm familyalarının modernleştirilmesi ve revize edilmesi amacıyla yapılan filogenetik çalışmalar için de moleküler veriler sağlandı.

KAYNAKLAR

- Akalin, E.** 1999. Türkiye'nin Batısında Yetişen *Ferulago* Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Al-Eisawi, D. & Jury, S. L.** 1988. A taxsonomic revision of the genus *Tordylium* L. (Apiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 97 (4). 357-403.
- Anonim,** 2006. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mitokondri>
- Avcı, M.** 1993. Türkiye'nin Flora Bölgeleri ve "Anadolu Diagonali"ne Coğrafi Bir Yaklaşım. Türk Coğrafya Dergisi. 28, 225-248.
- Bell, C. R. & Constance, L.** 1957. Chromosome Numbers in Umbelliferae. II. American Journal of Botany. 44 (7): 24-32.
- Bennett, M.D. and Leitch, I.J.,** 2003. Plant DNA C-value database. Release 2.0. Royal Botanical Gardens, Kew, West Sussex, U.K.
- Berkay, Ö.,** Türler arası moleküler dizi karşılaştırmaları, evrimsel ilişki. ErişimTarihi:12.01.2012). http://www.genbilim.com/index.php?option=com_smf&Itemid=114&topic=182.msg718#msg718.
- Boissier, E.,** 1867-1888. "Flora Orientalis", 1-4, Genova.
- Boissier, P. E.** 1844. Plantae Aucherianae. Annales des Sciences natureles. 3 (2): 59.
- Boissier, P. E.** 1856. Diagnoses plantarum orientalium novarum. 2. (5). B. Herrmann, Leipzig.
- Bretting, P.K. and Widrlechner, M.P.,** 1995. Genetic Markör and Horticultural Germplasm Management, Hortscience, 30 (7), 1329-1356.
- Calvino, C. I. & Downie, S. R.** 2007. Circumscription and phylogeny of Apiaceae subfamily *Saniculoideae* based on chroplast DNA sequences. Molecular Phylogenetic and Evolution. 44. 175-191.
- Cannon, J. F. M.** 1968. *Anthriscus*. In: Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A. (ed), Flora Europaea. 2: 326. Cambridge University Press. Cambridge.
- Cerceau-Larrival, M. Th. & Roland-Heydacker, F.** 1976. The evolutionary significance of the ultrastructure of the Exine in Umbelliferous pollen grains. In: The Evolutionary Significance of The Exine. Linn. Soc. Symp. Ser. 1: 481-498.

- Cerceau-Larrival, M. Th.** 1956. Cle De Determination D'Ombelliferes De France et D'Afrique Du Nord D'Apres Leurs Grains De Pollen. Pollen et Spores. 1(2): 145-190.
- Cerceau-Larrival, M. Th.** 1962. Le Pollen D'Ombelliferes Mediterraneennes. Pollen et Spores. 4(1): 95-104.
- Cerceau-Larrival, M. Th.** 1971. Morphologie Pollinique et Correlations Phylogenetiques Chez Les Ombelliferes. In: V.H. Heywood (Editör), The Biology of The Umbelliferae. Journal of Linnaen Society. Supplemantum. 109-156.
- Constance, L. & Bell, C. R.** 1966. Chromosome Numbers in Umbelliferae. III. American Journal of Botany. 53 (5): 512-520
- Constance, L., Chuang, T. L. & Bell, C. R.** 1976. Chromosome Numbers in Umbelliferae. V. American Journal of Botany. 63 (5): 608-625.
- Corrias, S., Garbari, F. & Marchi, P.** 1984. Numeri Cromosomici per la Flora Italiana 1~100. Informatore Botanico Italiana. 16:3: 219-241.
- Crawford, D.J.,** 2000. Plant Macromolecular Systematics In The Past 50 Years: One View, Taxon, 49, 81-103
- Davis, P. H. & Hedge, I. C.** 1975. The Flora of Turkey: Past, Present and Future. Candollea. 30: 331-351.
- Davis, P. H.** (ed) 1965-1985. 'Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 1-9. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Davis, P. H.** (ed) 1972. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 4. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Davis, P. H., Harper, P. C. & Hedge, J. C.,** Plant Life of South-West Asia. 335 S., 4 Tafeln, 67 Abb., 11 Tab. Published by the Botanical Society of Edinburgh. Royal Botanic Garden, Dr. Roy Watling, Edinburgh, 1971. EH 3 51 R
- Davis, P. H., Mill, R. R. & Tan, K.** 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement), vol. 10. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Dilsiz, N.,** 2004. Moleküler Biyoloji, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Doğan Güner, E.** 2006. Türkiye'deki *Seseli* L. (Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu. Doktora tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Doğan, B.,** 2007. Türkiye *Jurinea* Cass. (Asteraceae) cinsinin revizyonu, Doktora Tezi, Selçuk Üniv. Biyoloji Anabilim Dalı, Konya.

- Dombrowski, S.; Hoffmann, M.; Kuhn, J.; Brennicke, A. and Binder, S., 1998.** On mitochondrial promoters in *Arabidopsis thaliana* and other flowering plants, Möller, I. M.; Glaser, E. and Glimelius, K., Eds, Plant mitochondria, pp. 165-170, Backhuys Publishers, The Netherlands.
- Downie, S. R. & Katz-Downie, S., 1996.** A molecular phylogeny of Apiaceae subfamily *Apioideae*: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany*. 83. 234-251.
- Downie, S. R., Hartman, R. L., Sun, F.J. & Katz-Downie, D. S. 2002.** Polyphyly of the Spring-Parsleys (*Cymopterus*): Molecular and Morphological Evidence Suggests Complex Relationships Among the Perennial Endemic Genera of Western North
- Downie, S. R., Katz-Downie, D. S. & Spalik, K. 2000a.** A Phylogeny of Apiaceae Tribe *Scandiceae*: Evidence From Nuclear Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer Sequences. *American Journal of Botany*. 87(1): 76.
- Downie, S. R., Ramanath, S., Katz-Downie, D. S. & Llanas, E. 1998.** Molecular Systematics of Apiaceae Subfamily *Apioideae*; Phylogenetic Analyses Of Nuclear Ribosomal DNA internal Transcribed Spacer And Plastid RPOC1 Intron Sequences. *American Journal of Botany*. 85(4): 563-592.
- Downie, S. R., Spalik, K., Katz-Downie, D. S. & Reduron, J.-P. 2010.** Major clades within Apiaceae subfamily *Apioideae* as inferred by phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences. *Plant Diversity and Evolution* (formerly *Botanische Jahrbücher*). 128: 111-136.
- Downie, S. R., Watson, M.F., Spalik, K. & Katz-Downie, D. S. 2000b.** Molecular Systematics of Old World *Apioideae* (Apiaceae): Relationships Among Some Members of Tribe *Peucedaneae* sensu lato, The Placement of Several Island 272 Endemic Species, and Resolution within the Apioideid Superclade. *Canadian Journal of Botany*. 78(4): 506-529.
- Downie, S.R., Katz, D.S., and Watson, M.F., 2000.** A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rp116 and rpoC1 intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae, *American Journal of Botany*, 87, 273-292.
- Downie, S.R., Katz-Downie, D.S., Spalik, K., 2000a.** A Phylogeny of *Apiaceae* tribe *Scandiceae*: Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences, *American Journal of Botany*, 87(1): 76-95.

- Doyle, J.J. and Doyle, J.L.,** 1987. A Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bull.* 19, 11-15.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L.,** 1991. *DNA higher plants systematics: Principles and Results: Molecular technics in taxonomy*, Çevr. ed: Hewitt et al., Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Draper, S.R. and Cooke, R.J.,** 1983. *Biochemical Tests for Cultivar Identification*, ISBN:0-7923-6881-9, ISTA/Switzerland.
- Ecevit, G. G.,** 2010. Türkiye'nin Batısında ve Güneyinde Yetişen *Eryngium* L. Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Ekim, T.** 1997. Ülkemizde Floristik Çalışmaların Kronolojisi ve Son Gelişmeler. Taksonomi Yaz Okulu Ders Notları. Sf. 51-72. Antalya.
- Ekim, T. & Güner, A.,** 1986. "Anatolian Diagonal : fact or fiction? Proceeding of the Royal Society of Edinburgh, Volume 89, Section B, p.p. 69-77
- Erdtman, G.** 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy, Angiosperms. Almquist and Wiksell. 150-170. Stockholm.
- Ertaş, Ş.,** 2013. Kırıkkale İlinde Yetişen Apiaceae Familyasına Ait Bazı Türlerde Moleküler Taksonomik Bir Çalışma, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale.
- Felsenstein, J.,** Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. *Molecular Evolution.* 26, (1987) 123-31.
- Feng, T., Downie, S. R., Yu, Y., Zhang, X., Chen, W., He, X. & Liu, S.** 2009. Molecular systematics of *Angelica* and allied genera (Apiaceae) from the Hengduan Mountains of China based on nrDNA ITS sequences: phylogenetic affinities and biogeographic implications. *Journal of Plant Research.* 122: 403-414.
- Freeman, S. and Herron, J. C.,** Evrimsel Analiz. Çıplak, B., Başbüyük, H. H., Karaytuğ, S., Gündüz, İ. (eds), Palme Yayıncılık, Ankara, 28-29, (1999) 438-449, 708 s.
- Gülkaç, M.D. ve Yüksel, E.,** 1999, Türkiye'deki Spalax Tür ve Alttürlerinin Dağılımına ve Türleşmesine Coğrafik İzolasyonun Etkisi, *Tr. J. Of Zoology*, 23 (Supp. 2): 491-496.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N.,** 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markörler ve Kullanım Alanları, *Alatarım*, 4 (2), 2737.

- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M. T. (edlr)** 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. & Başer, K. H. C. (eds.)** 2000. Flora of Turkey and the East Eagean Islands (Supplement 2), Vol.11. Edinburgh University Press. Edinburgh
- Hazslinszky, F.,** 1864. Éjszaki Magyarhon vir ánya. K. Werfer, Kassan.
- Hedge, I. C., Lamond, J. M. & Matthews, V. A.,** 1971. Material for a Flora of Turkey XXV: Some New Species of Umbelliferae. Notes RBG Edinb. 31: 75-79.
- Herrnstadt, I. & Heyn, C. C.** 1977. A Monographic Study of the Genus *Prangos* (Umbelliferae). Boissiera. 26:1-91.
- Herrnstadt, I. & Heyn, C. C.** 1977. A Monographic Study of the Genus *Prangos* (Umbelliferae). Boissiera. 26:1-91.
- Heywood, V. H.** 1978. Flowering Plants of the World. Oxford Univ. Press. London, 309-314.
- Hillis, D.M. and Moritz, C.,** 1990. *Molecular Systematics*, Sinauer Associates, Inc. Publishers, USA.
- Hoffmann, G. F.** 1814. Genera Plantarum Umbelliferarum. Published by the author. Moskva.
- Hoisington, D.,** 1992. Laboratory protocols, CIMMYT. *Applied Molecular Genetics Laboratory*, Mexico DF.
- Holub, J., Mesicek, J. & Javurkova, V.** 1972. Annotated Chromosome Counts of Czechoslovak Plants (31-60) (Materials for Flora CSSR-3). Folia Geobot. Phytotax. 7: 167-202.
- Işık, Z., Parmaksız, I., Çoruh, C., Geylan-Su, Y.S., Cebeci, O., Beecher, B. and Budak, H.,** 2007. Organellar genome analysis of rye (*Secale cereale*) representing diverse geographic regions, Genome, 50, 724-734.
- Jury, S. L.** 1988. Breeding Systems and Taxonomy of the Spanish Species of *Torilis Adonson* (Apiaceae). Artes del Simposi Internacional de Botanica Pius Fonti Quer, Faerogamia. 2: 161-163.
- Jury, S. L.** 1996. Pollination and Dispersal in Mediterreanean Umbellifers. Bocconeia. 5: 193 199.

- Jury, S. L.** 2000. *Athamantha vayredanum* (Apiaceae) New to Morocco. *Notas Taxonomicas y Corologicas Para la Flora Vascular de Andalucia Lagasalia*. 21(2): 34-75.
- Kabaoğlu, A.**, 2007. Türkiye’de bulunan *Hypogymnia* (Nyl.) Nyl. Türlerinde rDNA ITS Bölgesi Dizi Analizi ile Çeşitliliğin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi. Ankara.
- Kellogg, E. and Bennetzen, J.L.**, 2004. The evolution of nuclear genome structure in seed Plants, *American Journal of Botany*, 91, 1709–1725
- 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.
- Knees, S.** 1989. Umbellifers of the British Isles. Dyfed: Shire Publications. L. (Umbelliferae-Apioideae) II. *Bull. Soc. Nat. Mosc., div.biol.* 88(5): 82-94.
- Lavrova, T. V., Pimenov, M. G. & Deviatkova, G. N.** 1987. The usage of cluster analysis in the elucidation of the taxonomic relations of species of subtribe 275 *Foeniculinae* (Umbelliferae) of The USSR. *Botanicheskii Zhurnal Moscow & Leningrad*. 72 (1). 25-38.
- Lawrence, G. H. M.** 1989. *Taxonomy of Vascular Plants*. Macmillan Publishing Co. 413-416. New York.
- Lee, B.Y., Downie, S.R.**, 1999. A Molecular phylogeny of Apiaceae tribe Caucalideae and related taxa: Inferences based on ITS sequence data. *Systematic Botany*. Vol. 24, No: 3., pp. 461-479.
- Magee, A. R., Wyk, B.-E. van, Tilney, P. M. & Downie, S. R.** 2008. *Ezoscium* (Apiaceae): A taxonomic revision of yet another early diverging South African apioid genus. *Plant Systematics and Evolution*. 276: 167-175.
- Meikle, R. D.** 1985. *Flora of Cyprus*. Royal Botanic Gardens. Kew, 2: 1599-1600.
- Menemen, Y. & Jury, S. L.** 2001a. A taxonomic Revision of Genus *Pastinaca* L.(Umbelliferae). *Israel Journal of Plant Sciences*. 49:67-77.
- Menemen, Y. & Jury, S. L.** 2001b. Comparative Fruit Studies in a Group of Tribe *Peucedaneae* (Umbelliferae). *Israel Journal of Plant Sciences*. 49:135-146.
- Mount, DW.**, *Bioinformatics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York., Chapter 3. Alignment of pairs of sequences; (2001) 52-137.

- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H., 1986.** Specific enzymatic amplification of DNA in-vitro: The polymerase chain reaction, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology., 51, 263-273.
- Neves, S.S., Watson, M.F., 2004.** Phylogenetic relationships in *Bupleurum* (Apiaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequence data. *Annals of Botany*. 93, 379–398.
- Ostroumov, T. A. & Pimenov, M. G. 1997.** Carpological diversity of African *Peucedanum* s.l. (Umbelliferae) I. The species of southern Africa. *Feddes Repertorium*. 108: 5-6. 299-318.
- Özhatay, N., Güner, A., Ekim, T., Başer, K.H.C., 2000.** Flora of Turkey and the East, Edinburgh University Press, Edinburgh., 11.
- Özhatay, N. & Kültür, Ş. 2006.** Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*. 30: 281-316.
- Özhatay, N., Kültür, Ş. & Aslan, S. 2009.** Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey IV. *Turkish Journal of Botany*. 33: 191-226.
- Özkurt, Ş., Yiğit, N., Çolak, E., 2002,** Karyotype variation in Turkish populations of *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia). *Z. Säugetierkunde*. 67: 117-119
- Parkinson, P. G. 1987.** Adonson's Generic Names for Seed Plants: Validation and Typification part 2- Unconserved Names in Current Use. *Taxon*. 36: 601-608.
- Persoon, C. H. 1805.** Synopsis plantarum. 1. C. F. Cramer. Paris.
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 1980.** Notes on *Muretia* and *Stefanoffia*. *Notes R.B.G. Edinb.* 38 (2): 267-272.
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 1992.** Reduction of *Spongisyndesmus* Gilli to *Ladyginia* Lipsky (Umbelliferae). *Edinb. J. Bot.* 49 (2): 213-218.
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 1995.** Notes on Himalayan *Schulzia* (Umbelliferae). *Kew Bull.* 50(3): 637-644.
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 1997.** A New Monotypic Section in *Prangos* Lindl. (Umbelliferae) and the Correct Name for Its Species. *Candollea*. 52:109-111.
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 1999.** New Nomenclatural Combinations for Chinese Umbelliferae. *Feddes Repertorium*. 110: 7-8, 481-491. 277
- Pimenov, M. G. & Kljuykov, E. V. 2001.** Floristic Novelties in the Umbelliferae of Xinjiang, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*. 39 (3): 193-202.

- Pimenov, M. G. & Leonov, M. V.** 1993. The genera of the Umbelliferae. A nomenclator. Kew: Royal Botanic Gardens. London.
- Pimenov, M. G. & Leonov, M. V.** 2004. The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with Particular Reference to South-West Asian Taxa. Turkish Journal of Botany. 28:139-145.
- Pimenov, M. G. & Leonov, M. V.** 2004. The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with Particular Reference to South-West Asian Taxa. Turkish Journal of Botany. 28:139-145.
- Pimenov, M. G. & Leonov, M. V.** 2004. The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with Particular Reference to South-West Asian Taxa. Turkish Journal of Botany. 28:139-145.
- Pimenov, M. G. & Ostroumova, T. A.** 1994. The genus *Malabaila* Hoffm. (Umbelliferae: Tordylieae): A carpological investigation and taxonomic implications. Feddes Repertorium. 105: 141–155.
- Pimenov, M. G. & Sdobnina, L. I.** 1983. Central Asian Species of the Genus *Bupleurum*
- Pimenov, M. G. & Sdobnina, L. I.** 1983. Central Asian Species of the Genus *Bupleurum* L. (Umbelliferae-Apioideae) II. Bull. Soc. Nat. Mosc., div.biol. 88(5): 82-94.
- Pimenov, M. G.** 1974. De Generis *Seseli* L. Speciebus Nonnullis in Montibus Asiae Mediae Cisferganensibus Crescentibus. Nov. Sys. Pl. Vas. 11: 241-248.
- Pimenov, M. G.** 1988. Monographic revision of the genus *Dorema* D. Don (Umbellifera). Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody Otdel Biologicheskii. 93 (2). 76-90.
- Pimenov, M. G.** 1988. Monographic revision of the genus *Dorema* D. Don (Umbellifera). Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody Otdel Biologicheskii. 93 (2). 76-90.
- Pimenov, M. G.** 1988. Monographic revision of the genus *Dorema* D. Don (Umbellifera). Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody Otdel Biologicheskii. 93 (2). 76-90.
- Pimenov, M. G.** 1989. A New Species of the Genus *Bupleurum* L. (Umbelliferae) From Southern Kirghizia. Bull. Soc. Nat. Mosc., div. biol. 94(2): 80-82.
- Pimenov, M. G.** 1989. A New Species of the Genus *Bupleurum* L. (Umbelliferae) From Southern Kirghizia. Bull. Soc. Nat. Mosc., div. biol. 94(2): 80-82.

- Pimenov, M. G., Kljuykov, E. V. & Khokhrjakov, A. P.** 1995. New Records of the Umbelliferae from the North-Eastern Anatolia (Turkey). *Bot. Zhurn.* 80(7): 100-108.
- Pimenov, M. G., Kljuykov, E. V., Dickore, W. B. & Miede, G.** 2000. Four Himalayan Umbelliferae New to the Flora of China, With Critical Notes on *Tordyliopsis* DC. and *Keraymania* Farilla. *Willdenovia*. 30: 361-367.
- Pimenov, M. G., Ostroumova, T. A. & Tomkovitch, L. P.** 1982. The Structure of the Petioles in Caucasian Umbelliferae abstract. *Bull. Mus. Natn. Hist. Nat., div.biol.* 87(3): 57-75.
- Pimenov, M. G., Ostroumova, T. A., Tomkovitch, L. P. & Kljuykov, E. V.** 1986. La Structure Anatomique du Petiole d'Ombellifères d'Asie Centrale. *Bull. Mus. Natn. Hist. Nat.* 1: 77-99.
- Poljakov, P.P.** In V.L. Komarov (Ed.). *Flora Of The U.S.S.R.*, Izdatelstvo Akad., Vol: XXVI, Nauk Sssr, Leningrad, (1961b), Pp.425-631.
- Punt, W.** 1984. The Northwest European Pollen Flora, 37. Umbelliferae. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 42: 155-364.
- Reduron, J. P. & Spalik, K.** 1995. Le genre *Anthriscus* (Apiaceae) dans la flore française. *Acta Botanica Gallica*. 142. 1: 55-96.
- Rostafiński, J.** 1885. De plantis quae in 'Capitulari de villis et curtis imperialibus' Caroli Magni commemorantur. Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- Safina, L. K. & Pimenov, M. G.** 1990. Carpology of the Species of Type Subgenus of the Genus *Ferula* and Some Problems of Their Systematics. *Feddes Repertorium*. 101(3): 135-151.
- Saitou N. and Īmanishi, T.**, Relative efficienciens of the Fitch-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.
- Saitou, N., Nei, M.**, The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, (1987) 406- 425.
- She, M., Pu, F., Pan, Z., Watson, M., Cannon, J. F. M., Holmes-Smith, I., Kljuykov, E. V., Phillippe, L. R. & Pimenov, M. G.** 2005. "Apiaceae" Flora of China. 14: 1-205.

- Shner, J. V., Alexeeva, T.V., Pimenov, M.G. & Van Wyk, B.-E.** 2011. Chromosome numbers of South African Umbelliferae (Apiaceae). *South African Journal of Botany*. 77 (2) : 497-502.
- Shneyer, V. S., Kutyavina, N. G. & Pimenov, M. G.** 2003. Systematic Relationship Within and Between *Peucedanum* and *Angelica* (Umbelliferae - Peucedaneae) Inferred From Immunological Studies of Seed Proteins. *Plant Systematic and Evolution*. 236: 175-194.
- Shneyer, V. S., Kutyavina, N. G. & Pimenov, M. G.** 2003. Systematic Relationship Within and Between *Peucedanum* and *Angelica* (Umbelliferae - Peucedaneae) Inferred From Immunological Studies of Seed Proteins. *Plant Systematic and Evolution*. 236: 175-194.
- Simpson, M. G.** 2006. *Plant Systematics*. Elsevier Academic Press. sf. 322.
- Sneath, P. H. A., Sokal, R. R.,** Numerical Taxonomy: The Principals and Practice of Numerical Classification. San Francisco: Freeman. (1973).
- Solov'eva, N. M., Pimenov, M. G., Vasil'eva, M. G., Zigerava, N. N. & Turkov, V. D.** 1985. Karyotaxonomic Study of Some Species of *Peucedanum* (Umbelliferae). *Plant Systematic and Evolution*. 151: 89-101.
- Soltis, P.S., Soltis, D.E. and Doyle, J.F.,** 1992. *Molecular Systematics of Plants*, Springer, ISBN 0412022419.
- Spalik, K.,** 1996. Species boundaries, phylogenetic relationships, and ecological differentiation in *Anthriscus* (Apiaceae) P1. *Syst. Evol* 199:17-32.
- Spalik, K. & Jarvis, C. E.** 1989. Typification of Linnaean names now in *Anthriscus* (Apiaceae). *Taxon*. 38: 288-293.
- Spalik, K.** 1997. Revision of *Anthriscus* (Apiaceae). *Polish Botanical Studies*. 13: 1-69.
- Spalik, K., Reduron, J.-P., Downie, S.R.,** 2004, The Phylogenetic position of *Peucedanum* sensu lato and allied genera and their placement in tribe *Selineae* (Apiaceae, subfamily Apoideae). *Plant Syst. Evol.*, 243, 189-210.
- Spalik, K., Wojewodzka, A., Downie, S. R.,** 2001. The evolution of fruit in Scandiceae subtribe Scandicinae (Apiaceae), *Can. J. Bot.*, 79(11), 1358-1374.
- Sprengel, K.** 1813. *Plantarum umbelliferarum denuo desponendarum prodromus*. Neue Schr. naturf. Ges. Halle. 2. 1: 3-42.

- Stam, M., Belete, C., Ramakrishna, W., Dorweiler, J. and Benentzen, L.,** 2002. The regulatory regions required for *B'*paramutation and expression are located far upstream of the maize *b1*transcribed sequences, *Genetics*, 162, 917– 930.
- Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G. and Bouvet, J.,** 1991. Universal Primers amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA, *Plant Mol. Biol. Int. J. Mol. Biol. Biochem. Genet. Eng.*, 17, 1105-1109.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A. et al.,** 2007. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*, 35, No. 3.
- Tekin, M., Civelek, Ş.,** 2013. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Anthriscus* Pers. (Apiaceae/Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Tekin, M., Civelek, Ş.,** 2016. *Anthriscus lamprocarpa* subsp. *chelikii* (Apiaceae), a new subspecies from Southern Turkey, *Phytotaxa*.
- Thellung, A.** 1926. *Chaerifolium*. In: G. Hegi (ed.), *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*. 5 (2): 1014-1032. Hauser, München.
- Theobald, W. L.** 1967a. Anatomy and systematic position of *Uldinia* (Umbelliferae). *Brittonia*. Vol. 19.2:165-173.
- Theobald, W. L.** 1967b. Comparative morphology and anatomy of *Chlaenosciadium* (Umbelliferae). *Journal of the Linnean Society of London Botany*. 60: 75–84.
- Türkan, İ.,** 2007. Post genomik çağda biyolojide gelişmeler, PPT sunusu, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Unseld, M., Marienfeld, J.R. and Petra, B.P.,** 1997. The mitochondrial genome of *Arabidopsis thaliana* contains 57 genes in 366,924 nucleotides, *Nature Genetics*, 15, 57-61.
- URL-1,** <http://eski.dkm.org.tr/anadolu-caprazi/anadolu-caprazi-nedir.php>
- URL-2,** <http://www.agron.missouri.edu/mnl/70/mitochondria.html>
- Valiejo-Roman, C. M., Terentieva, E. I., Samigullin, T. H. & Pimenov, M. G.** 2002. Relationships among genera in *Saniculoideae* and selected *Apioideae* (Umbelliferae) inferred from nrITS sequences. *Taxon*. 51. 91-101.
- Vasil’eva, M. G. & Pimenov, M. G.** 1991. Karyotaxonomic Analysis in the Genus *Angelica* (Umbelliferae). *Plant Systematic and Evolution*. 177:117-138.

- Vasil'eva, M. G., Kljuykov, E. V. & Pimenov, M. G.** 1985. Karyotaxonomic Analysis of the Genus *Bunium* (Umbelliferae). *Plant Systematic and Evolution*. 149: 71-88.
- Wahlenberg, G.** 1814. *Flora Carpatorum principalium*. Vandenhöck, Ruprecht, Göttingen.
- 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.
- Wang, Q.Z., He, X.J., Zhou, S.D., Wu, Y.K., Yu, Y.**, 2008. Phylogenetic inference of the genus *Bupleurum* (Apiaceae) in Hengduan Mountains based on chromosome counts and nuclear ribosomal DNA ITS sequences, *J. Syst. Evol.*, 46(8).
- Welsh, J. and McClelland, M.**, 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR With Arbitrary Primers, *Nucleic Acids Research*, 18, 7213-7218.
- Wendel, J.F.**, 2000. Genome evolution in polyploids, *Plant Molecular Biology*, 42, 225–249.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V.**, 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markörs, *Nucleic Acids Research*, 18, 6531-6535.
- Wolfe, K.H., Li, W.H., Sharp, P.M.**, 1987. Rates of nucleotide substitutions vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **84**, 9054-9058.
- Wolstenholme, D.R. and Fauron, C.R.**, 1995. Mitochondrial genome organization, In *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*, Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 3, 1–60.
- Xu, D.H., Abe, J., Sakai, M., Kanazawa, A. and Shimamoto, Y.**, 2000. Sequence variation of noncoding regions of chloroplast DNA of soybean and related wild species and its implications for the evolution of different chloroplast haplotypes, *Theoretial and Applied Genetics*, 101, 724-732.
- Yang, Z.Y ., Chao, Z., Huo, K.K., Xie, H., Tian Z.P. and Pan S.L.**, 2007. ITS sequence analysis used for molecular identification of the *Bupleurum* species from northwestern China. *Phytomedicine*, 14, 416-422.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N.**, 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodlar.

EKLER

Ek-1: Çalışmada kullanılan 48 bireyin kloroplast DNA'sının *trnL3'-trnF* bölgesinin sekans dizilimi

Tür Adı	Toplayıcı Numarası ve Toplanma Yeri	Sekans Dizilimi
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1090)-Aksaray	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGT AGTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCA CCcTACTCTTTTACAATGGATCCGAGAG AAAAAATTTGTCTCTTATGACAAGTCTT GTGATATATGATACATGTACAAATGACC GTCTTTGACCAAAGACTCCCCATTTGAA CGAGTCATGGTCGATATCATTATTCATA CTGAAACTGACAAAGTCTTCCTTTTTTG AAGATCCAAGAAATTGGAGCACGTGGA TAATACCCTTTGAATTGACATAGACCTA AGTTATCTCATAAAATGGGGATGCGGTA TCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1085)-Eskişehir	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGT AGTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCA CCCTACTCTTTTACAATGGATCCGAGAG AAAAAATTTGTCTCTTATGACAAGTCTT GTGATATATGATACATGTACAAATGACC GTCTTTGACCAAAGACTCCCCATTTGAA CGAGTCATGGTCGATATCATTATTCATA CTGAAACTGACAAAGTCTTCCTTTTTTG AAGATCCAAGAAATTGGAGCACGTGGA TAATACCCTTTGAATTGACATAGACCTA AGTTATCTCATAAAATGAGGATGCGGTA TCGGGA

<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1113)-Bolu	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1196)-Kocaeli	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1083)- Afyonkarahisar	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1077)-Tekirdağ	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1080)-Isparta	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1197)-Bursa	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1084)- Afyonkarahisar	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.caucalis</i> var. <i>caucalis</i>	(MT 1078)-Edirne	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAATGGATCCAAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.kotschy</i>	(MT 1164)-Niğde	TTATCTCTTATCCTTTTTTTTTTTTCGTTAGT AGTTCAAAATTAGTTATCTTTATATTCACC TACTCTTTTAAAACGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.kotschy</i>	(MT1161)- Kastamonu	TTATCTCTTATCCTTTTTTTTTTCGTTAGT AGTTCAAAATTAGTTATCTTTATATTCACC TACTCTTTTAAAACGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.kotschy</i>	(MT 1163)-Niğde	TTATCTCTTATCCTTTTTTTTTTCGTTAGT AGTTCAAAATTAGTTATCTTTATATTCACC TACTCTTTTAAAACGGATCCGAGAGAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1130)-Kars	TTATCTTATCCTTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACTACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1126)-Iğdır	TTATCTTATCCTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACTACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1129)-Kars	TTATCTTATCCTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACTACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1143)-Artvin	TTATCTTATCCTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACTACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1156)-Ardahan	TTATCTTATCCTTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACCACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	(MT 1115)-Bolu	TTATCTTATCCTTTTTTTTCGTTAGTAGTTC AAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTACT CTTTTACCACGGATCCGAGAGAAAAAATT TGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATAT GATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACC AAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGGT CGATATCATTATTCATACTGAAACTGACA AAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAAA TTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAAT TGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAAT GAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1096)-Erzincan	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTCGTTAGTAG TTCAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1082)-Konya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTCGTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1105)-Amasya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTCGTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1089)-Aksaray	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTCTTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCCTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1086)-Eskişehir	TTATCTTATCCTTTTTTCTTTTTTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTGA AAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1204)-Isparta	TTATCTTATCCTTTTTTCTTTTTTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTGA AAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1074)-Amasya	TTATCTTATCCTTTTTTCTTTTTTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTGA AAATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.cerefolium</i> var. <i>trichocarpa</i>	(MT 1192)-Amasya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTTTTTAGTAG TTCAAAATCCGTTATCTTTCTATTCACCCT ACTCTTTTACAAAGGATCCGAGAAAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACTAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTAGAGCACGTGTATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>lamprocarpa</i>	(MT 1218)-Hatay	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGCTATCGGGA
<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	(MT 1224)-Osmaniye	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGCTATCGGGA

<i>A.lamprocarpa</i> subsp. <i>chelikii</i>	(MT 1212)-Karaman	TGATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAG TTCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCT ACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAA ATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATAT ATGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGA CCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATG GTCGATATCATTATTCATACTGAAACTGA CAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGA AATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGA ATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAA ATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	(MT 1095)-Aydın	ATATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAAAGGATCCGAGATAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACCCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	(MT 1069)-Aydın	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAAAGGATCCGAGATAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACCCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.tenerrima</i> var. <i>tenerrima</i>	(MT 1200)-Manisa	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGGTA GTAAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCC TACTCTTTTACAAAGGATCCGAGATAAAA AATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGAT ATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTT GACCAAAGACCCCCCATTTGAACGAGTCA TGGTCGATATCATTATTCATACTGAAACT GACAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAA GAAATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTT GAATTGACATAGACCTAAGTTATCTCATA AAATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1142)-Artvin	ATATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAG TTCAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCT ACTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAA ATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATAT ATGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGA CCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATG GTCGATATCATTATTCATACTGAAACTGA CAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGA AATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGA ATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAA ATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1227)-Sivas	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA

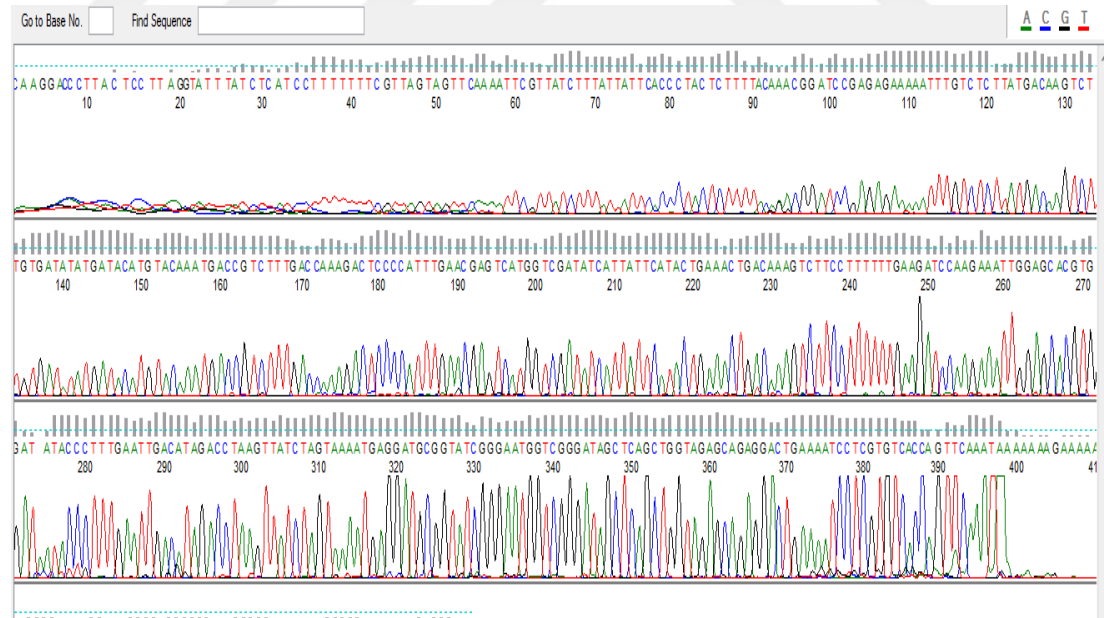
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1140)-Artvin	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1166)-Artvin	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1099)-Erzincan	CCATCAACTCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAG TTCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCT ACTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAA ATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATAT ATGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGA CCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATG GTCGATATCATTATTCATACTGAAACTGA CAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGA AATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGA ATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAA ATGAGGATGCGGTATCGGGA

<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1157)-Ardahan	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1015)-Bayburt	ATATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAG TTCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCT ACTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA ATTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATAT ATGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGA CCAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATG GTCGATATCATTATTCATACTGAAACTGA CAAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGA AATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGA ATTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAA ATGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1226)-Bilecik	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA

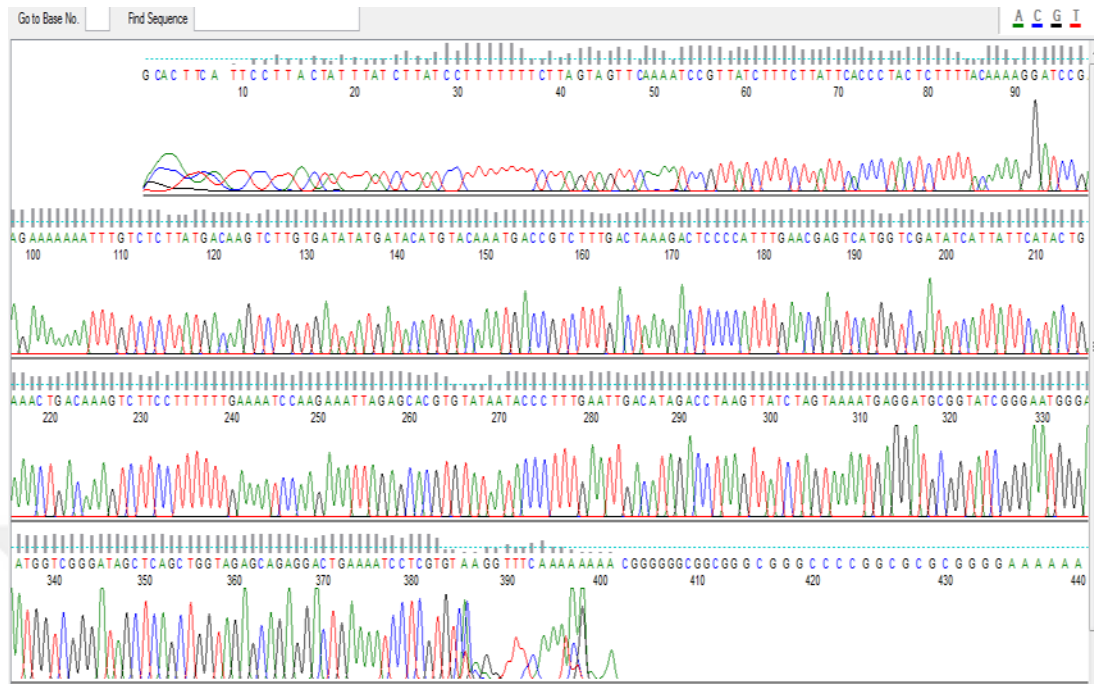
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1195)-Ankara	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1205)-Konya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGCTATCGGGA
<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1106)-Amasya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGCTATCGGGA

<i>A.sylvestris</i> subsp. <i>nemorosa</i>	(MT 1199)-Kütahya	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTATATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAGTCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTGGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA
<i>C.temulum</i>	(MT 1107)- Kastamonu	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTCTATTCACCCTA CTCTTTTACAATGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTAAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAATCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAC AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAGATCCAAGAA ATTAGAGCACGTGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TAAGGATGCGGTATCGGGA
<i>C.astrantia</i>	(MT 1167)-Artvin	TTATCTTATCCTTTTTTTTTTTGTTAGTAGT TCAAAATTCGTTATCTTTCTATTCACCCTA CTCTTTTACAACGGATCCGAGAGAAAAAA TTTGTCTCTTATGACAAGTCTTGTGATATA TGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGAC CAAAGACTCCCCATTTGAACGAATCATGG TCGATATCATTATTCATACTGAAACTGAT AAAGTCTTCCTTTTTTTGAAAATCCAAGAA ATTAGAGCACGCGGATAATACCCTTTGAA TTGACATAGACCTAAGTTATCTAGTAAAA TGAGGATGCGGTATCGGGA

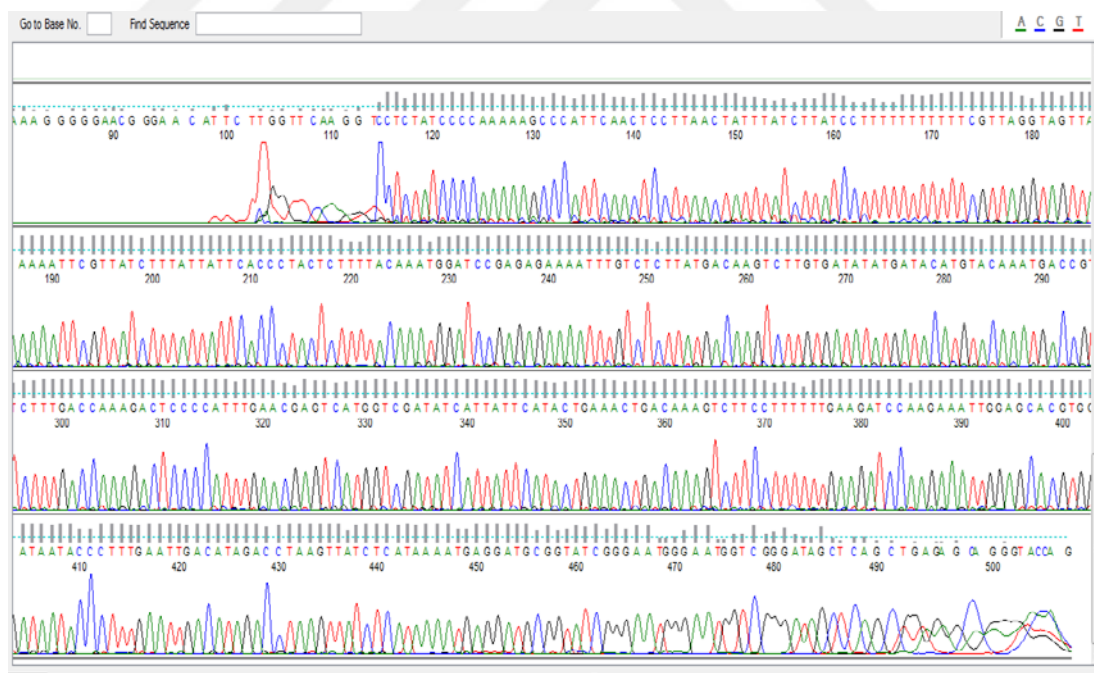
A. sylvestris subsp. *sylvestris*



A. cerefolium var. *trichocarpa*



A. caucalis var. *caucalis*



Go to Base No. Find Sequence

A C G T

GAAT A CATTTG AC A T CAG C TG AG C TAT CCCG ACCAT TCCCAT TCCCGAT ACCGCAT C C T C A T T T T A T G A G A T A A C T T A G G T C T A T G T C A A T T C A A A G G G T A T T A T C C A C G

10 20 30 40 50 60 70 80 90 100

T G C T C C A A T T T C T T G G A T C T T C A A A A A G G A A G A C T T T G T C A G T T T C A G T A T G A A T A T G A T A T C G A C C A T G A C T C G T T C A A A T G G G G G G T C T T T G G T C A A A G A C G C T C A T T T G T A C A

120 130 140 150 160 170 180 190 200 210 220

T G T A T C A T A T A C A A G A C T T G T C A T A A G A G A C A A A T T T A T C T G G A T C C T T T T G A A A A G A G T A G G G T G A A T A A A A G A T A C A A G A A T T T T T A A C T A C C T A A C G A A A A A A A A A A G G A

230 240 250 260 270 280 290 300 310 320 330 340

T A A G A A A A T G T A A G A G T T G A A T G G C T T T T T G G G G A T A G A G G A C T T G A A C C A A A A A A T A A T A A G A T T T T G G T T T T A T T T A A A A A A A A T T T T A G G G C T A A A G G A G G A A A A A

350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450 460

Go to Base No. First Sequence
Standard View

70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170

180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290

300 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410

420 430 440 450 460 470

Horizontal Scale

[illegible]

Go to Base No. Find Sequence

A C G T

G CAAAC TTC A C TCC TTA C TAT T GAT CT TAT CCT TTT TTTT C GTT AGT AGT T CAA AATT C GTT AT CTT TATT ATT C ACC C TACT CT TTT TACAAAT G GAT CC

10 20 30 40 50 60 70 80 90

GAGAG AAAAAT TTT GTCTCTTATGACAAAGTCTTGTGATATATGATACATGTACAAATGACCGTCTTTGACCAAAGACTCCCATTTTGAACGAGTCATGGTCGATATCATTAA

100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200

TTCTATCTGAAACCTGACAAAGTCTTCCCTTTTGTGAAGATCCCAAGAAATTTGAGACACGTGGATAATACCCCTTTGAAATGACATAGACCTTAAGTTATCTATGTAATAATGAGG

210 220 230 240 250 260 270 280 290 300 310

ATGGCGGATCTGGGAATGGTGGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAGGAGCTGAAAAATCCTCGTGTCGGGGCTTTGGCTCCTGGGGTTGGGTTTTTCCCTACGCGACT

320 330 340 350 360 370 380 390 400 410 420

C. temulum



C. astantia



ÖZGEÇMİŞ

Pelin YILMAZ SANCAR

- Doğum Yeri** : Elazığ
- Doğum Tarihi** : 13.01.1986
- Görevi** : Araştırma Görevlisi
- İş Adresi** : Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
- Tel** : 0 424 237 00 00/3818
- Fax** : 0 424 233 00 62
- e-posta** : peyilmaz@firat.edu.tr
pyilmaz23@hotmail.com
- 2012 -** : Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Botanik
Anabilim Dalı'nda Doktora Eğitimi.
- Tez Konusu** : Türkiye'de Yetişen *Anthriscus* Pers. (Apiaceae) Türlerinin
Genetik Yapısının ve Filogenetik Akrabalık İlişkilerinin
Kloroplast Genomunun Kodlanmayan "trn" Bölgelerine Göre
Araştırılması
- Danışman** : Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK
- 2010 - 2012** : Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Botanik
Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Eğitimi.
- Tez Konusu** : *Artemisia spicigera* K. Koch Türünün Van Gölü
Çevresindeki Populasyonlarının Morfolojik ve Sitogenetik
Yönden İncelenmesi
- Danışman** : Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK
- 2004-2008** : Fırat Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Eğitimi
- 1999-2003** : Lise Eğitimi
- 1996-1999** : Ortaokul Eğitimi
- 1991-1996** : İlkokul Eğitimi