

T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
2021-YL-023

**TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Carum* L.  
(Apiaceae) CİNSİNE AİT TÜRLERİN ITS, *trn*L-F,  
*trn*L İNTRON VE *rbc*L SEKANS DİZİLERİNE  
DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ**

**Feyzanur TOPSEÇER**

**Tez Danışmanı:  
Doç. Dr. Emre SEVİNDİK**

**AYDIN**



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Feyzanur TOPSEÇER tarafından hazırlanan TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *CARUM L.* (APIACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN ITS, *trnL-F*, *trnL-İNTRON* VE *rbcL* SEKANS DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ başlıklı tez, (09.03.2021) tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Ahmet OKUMUŞ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Doç. Dr. Emre SEVİNDİK (Danışman)	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Doç. Dr. Dudu DEMİR	Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

30/03/2021

Feyzanur TOPSEÇER



## ÖZET

### TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *Carum L.* (Apiaceae) CİNSİNE AİT TÜRLERİN ITS, *trnL-F*, *trnL* İNTRON VE *rbcL* SEKANS DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ

Feyzanur TOPSEÇER

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Emre SEVİNDİK

2021, 101 Sayfa

Bu çalışma ile Türkiye de yayılış gösteren *Carum L.* cinsine ait türlerin çekirdek (nrDNA) ITS ve kloroplast (cpDNA) *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* bölgelerinin moleküler sistematik analizi yapılarak nükleotid kompozisyon oranları ve türler arası genetik uzaklık değerleri belirlenmiş ve filogenetik ilişkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda ITS (A + T) içeriği %47,4, (G + C) içeriği %52,5; *trnL-F* (A + T) içeriği %64,2, (G + C) içeriği %35,7; *trnL* intron (A + T) içeriği %64,3, (G + C) içeriği %35,7 ve *rbcL* (A + T) içeriği %54,8, (G + C) içeriği %45,1 olarak netleştirilerek sekans analiz sonuçlarına göre ML ve NJ ağaçları oluşturulmuştur. ML sonuçlarına göre ITS, *trnL* intron ve *rbcL* sonuçlarında türler arasında ayırım oluşurken, *trnL-F* sonuçlarında ayırım olmamıştır. NJ ağacında, ITS ağacımızda türler arasında gruplaşma oluşurken, *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* sonuçlarında gruplaşma olmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apiaceae, *Carum*, nrDNA, ITS, cpDNA, *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL*





## ABSTRACT

### PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE SPECIES BELONGING TO THE GENUS *Carum* L. (Apiaceae) GROWING IN TURKEY BASED ON ITS, *trnL-F*, *trnL* INTRON AND *rbcL* SEQUENCES

Feyzanur TOPSEÇER

M.Sc. Thesis, Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emre SEVİNDİK

2021, 101 Pages

In this study, phylogenetic analysis of Turkish *Carum* L. species was conducted based on nuclear ribosomal DNA (nrITS) and chloroplast DNA *trnL* intron, *trnL-F* and *rbcL* regions molecular systematic analysis, nucleotide composition ratios and interspecies genetic distance values were determined and their phylogenetic relationships were evaluated. As a result of the study, ITS (A + T) content was 47.4%, (G + C) content was 52.5%; *trnL-F* (A + T) content 64.2%, (G + C) content 35.7%; By clarifying *trnL* intron (A + T) content 64.3%, (G + C) content 35.7% and *rbcL* (A + T) content 54.8%, (G + C) content 45.1%, the sequence ML and NJ trees were created according to the analysis results. According to ML results, while differentiation was formed between species in ITS, *trnL* intron and *rbcL* results, there was no distinction in *trnL-F* results. It was determined that there was no resolution in *trnL* intron, *trnL-F* and *rbcL* results, while grouping occurred between species in our ITS tree in the NJ tree.

**Key Words:** Apiaceae, *Carum*, nrDNA, ITS, cpDNA, *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL*



## ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinde, çalışmalarımın planlanmasında ve yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Emre SEVİNDİK'e; Çalışma meteryaline ait bitki örneklerini Türkiye'nin dört bir yanından toplayıp çalışmanın belkemiğini oluşturan Munzur Üniversitesi/Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümünden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY'a; Gerek tez çalışmalarım boyunca her türlü bilgi ve birikimiyle, gerekse özel yaşantımda her türlü durumda desteğiyle yanımda olan değerli arkadaşım Ziraat Mühendisi Melike AYDOĞAN'a; Dünyaya geldiğim andan itibaren her anımda yanımda olup beni sonsuz sevgi ile büyüterek hayatıma kattıkları tüm değerler adına başta kıymetli dedem İbrahim Reşat BALABAN, kıymetli anneannem Fatma BALABAN olmak üzere BALABAN ailesine, Ayrıca bilimsel faaliyetleri sevmemde büyük katkısı olan ve akademik hayata adım atmamı sağlayan ve bana olan güvenini hiç kaybetmeyen, karşılaştığım her türlü güçlükte daima yanı başımda duran sevgili dayım İsmail Niyazi BALABAN'a; Bana hayat veren ve koşulsuz, saf sevginin fiziksel tezahürü olan TOPSEÇER ailesi; her zaman her anlamda en iyi destekçim ve rehberim olduğunuz için, en önemlisi şu an ki ben olmamı sağladığınız için size minnettarım.

Her birinize kalpten sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Bu çalışmanın gerçekleşmesi adına destek olan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi'ne (Proje No: ZRF-19033) teşekkür ederim.

FeYZanur TOPSEÇER



# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xxiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxv
1 . GİRİŞ .....	1
1.1. Apiaceae (Umbelliferae) Familyası .....	3
1.1.1. Apiaceae Familyasının Taksonomik Özellikleri .....	4
1.1.2. Apiaceae Familyasının Çeşitliliği ve Kıtalara Dağılımı .....	5
1.1.3. Apiaceae Familyasının Ekonomik ve Tıbbi Önemi .....	6
1.2. Türkiye’de Apiaceae Familyası .....	7
1.3. <i>Carum</i> L. Genel Özellikleri .....	8
1.3.1. <i>Carum</i> L. Taksonlarına Ait Morfolojik Özellikler .....	9
1.4. Moleküler Sistematik .....	9
1.4.1. Moleküler Sistematikte Kullanılan DNA Çeşitleri .....	10
1.4.1.1. Çekirdek DNA’sı (nrDNA) .....	11
1.4.1.1.1. İç Transkribe Olan Boşluklar (Internal Transcribed Spacers, ITS) .....	12
1.4.1.1.2 ITS Bölgesinin Genel Özellikleri .....	13
1.4.1.2. Kloroplast DNA (cpDNA) .....	13

1.4.1.2.1. <i>trnL-trnF</i> (Genler Arası Boşluk) .....	15
1.4.1.2.2. <i>trnL</i> intron .....	15
1.4.1.2.3. <i>rbcL</i> .....	16
1.4.1.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA) .....	17
1.5. Biyoinformatik Analiz .....	19
1.5.1. Biyoinformatik .....	19
1.5.2. Biyolojik Veri Tabanları ve Programları .....	19
1.6. Filogenetik Analiz ve Ağaç Oluşturma .....	21
1.6.1. Filogenetik Ağacın Değerlendirilmesi .....	23
1.6.1.2. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metotları .....	24
1.6.1.2.1. Uzaklık Tabanlı Metotlar .....	25
1.6.1.2.1.1. Kümeleme Tabanlı Metotlar .....	25
1.6.1.2.1.1.1. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) .....	26
1.6.1.2.1.1.2. Neighbor-Joining (NJ) .....	26
1.6.1.2.1.2. Optimalite Tabanlı Metotlar .....	26
1.6.1.2.1.2.1. Fitch-Margoliash (FM) .....	26
1.6.1.2.1.2.2. Minimum Evolution (ME) .....	27
1.6.1.2.2. Karakter Tabanlı Metotlar .....	27
1.6.1.2.2.1. Maksimum Parsimony (MP) .....	27
1.6.1.2.2.2. Maksimum Likelihood (ML) .....	28
1.6.1.2.2.3. Bayes Metodu .....	28

2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal .....	39
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	39
3.1.2. Dış Grup Seçimi .....	40
3.1.3. Kullanılan Cam Malzeme ve Plastik Malzemelerin Hazırlanması.....	41
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	41
3.1.4.1. Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar.....	41
3.1.4.2. PCR’ de Kullanılan Kimyasallar .....	42
3.2. Metot ve Yöntem.....	43
3.2.1. GeneMark Kiti ile Yapılan DNA İzolasyonu.....	43
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (PCR) Kullanılan Protokoller .....	44
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi .....	46
3.2.4. Biyoinformatik Analiz .....	47
3.2.4.1. Dizileme ve Dizi Analizi.....	47
3.2.5. Filogenetik Analiz.....	48
4. BULGULAR .....	49
4.1. DNA İzolasyonu.....	49
4.2. PCR Sonuçları.....	49
4.2.1. ITS PCR Reaksiyonları.....	49
4.2.2. <i>trnL-F</i> PCR Reaksiyonları .....	49

4.2.3. <i>trnL</i> intron PCR Reaksiyonları.....	50
4.2.4. <i>rbcL</i> PCR Reaksiyonları.....	51
4.3. Dizileme ve Dizi Analizi .....	51
4.3.1. Dizileme Reaksiyonu.....	51
4.3.2. Dizilerin İşlenmesi.....	52
4.3.3. Dizilerin Hizalanması.....	53
4.3.4. Filogenetik Analiz .....	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
5.1. ITS Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi.....	55
5.1.1. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait ITS Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri .....	55
5.1.2. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait ITS Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi .....	56
5.1.3. ITS Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı .....	57
5.2. <i>trnL-F</i> Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi .....	59
5.2.1. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>trnL-F</i> Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri.....	59
5.2.2. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>trnL-F</i> Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi .....	60
5.2.3. <i>trnL-F</i> Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı .....	60
5.3. <i>trnL</i> intron Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi .....	62
5.3.1. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>trnL</i> intron Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri.....	62



5.3.2. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>trnL</i> intron Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi	63
5.3.3. <i>trnL</i> intron Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı	64
5.4. <i>rbcL</i> Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi	66
5.4.1. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>rbcL</i> Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri	66
5.4.2. <i>Carum</i> L. Türlerine Ait <i>rbcL</i> Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi	68
5.4.3. <i>rbcL</i> Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı	68
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ	101



## KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece (Celcius)
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
bp	: Base Pair (Baz Çifti)
cDNA	: Complementary DNA (Komplementer DNA)
cpDNA	: Kloroplast DNA
dH <sub>2</sub> O	: Distile Su
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleotid Trifosfat
ddNTP	: Dideoksiribonükleozid Trifosfat
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromid
ETS	: External Transcribed Spacer/ Dış Transkribe Boşluk
ETOH	: Etanol
g	: Gram
gDNA	: Genomik DNA
IGS	: Intergenic Spacer
ITS	: İç Transkripsiyonu Aralayıcı Bölge

kb	: Kilobaz
L.	: Linne
LSU	: Large Subunit/Büyük Alt Birim
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum Klorür
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mtDNA	: Mitokondri DNA
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
ML	: Maximum Likelihood
MP	: Maximum Parsimony
NaCl	: Sodyum Klorür
NCBI	: National Center For Biotechnology Information
NJ	: Neighbour Joining
NOR	: Nükleolar Organizer Region
nrDNA	: Nüklear Ribozomal DNA
NTS	: Non Transcribed Spacer
PAUP	: Phylogenetic Analysis Using Parsimony
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PHYLIP	: The Phylogeny Inference Package
<i>rbcL</i>	: RuBisCO

rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNase A	: RNA parçalayan enzim
rpm	: Dakikadaki Döngü Sayısı
sn	: Saniye
SSU	: Small Subunit/Küçük Alt Birim
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TE	: Tris – EDTA
TBE	: Tris-Borikasıit- EDTA
Tm	: Bağlanma Sıcaklığı
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average
UV	: Ultraviyole



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Apiaceae familyasının dünya üzerindeki yayılışı .....	4
Şekil 1.2. nrDNA'nın ITS bölgesi .....	12
Şekil 1.3. Kloroplast DNA'nın sirküler (halkasal) dublex yapısı ve bölgeleri .....	14
Şekil 1.4. Kloroplast DNA'nın <i>trnL</i> -F bölgesi .....	15
Şekil 1.5. Kloroplast DNA'nın <i>trnL</i> intron bölgesi .....	16
Şekil 1.6. cpDNA <i>rbcL</i> bölgelerinin gösterimi .....	16
Şekil 1.7. Mitokondriyal DNA genomu ve etiketlenmiş kontrol bölgeleri .....	18
Şekil 1.8. NCBI .....	21
Şekil 1.9. Filogenetik ağacın yıllara göre değişimi .....	22
Şekil 1.10. Filogenetik ağaç birimleri .....	23
Şekil 1.11. a) Köksüz filogenetik ağaç, b) Köklü filogenetik ağaç .....	24
Şekil 1.12. Filogenetik ağaç oluşturma metotları .....	25
Şekil 3.1. <i>Carum L.</i> taksonlarının toplandığı lokaliteler .....	39
Şekil 3.2. DNA izolasyonunda kullanılan kit ve kimyasallar .....	41
Şekil 3.3. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar .....	47
Şekil 4.1. <i>Carum L.</i> türlerinin ITS bölgesine ait jel fotoğrafı .....	49
Şekil 4.2. <i>Carum L.</i> türlerinin <i>trnL</i> -F bölgesine ait jel fotoğrafı .....	50
Şekil 4.3. <i>Carum L.</i> türlerinin <i>trnL</i> intron bölgesine ait jel fotoğrafı .....	50
Şekil 4.4. <i>Carum L.</i> türlerinin <i>rbcL</i> bölgesine ait jel fotoğrafı .....	51
Şekil 4.5. BioEdit programında DNA dizilerinin gösterimi .....	52
Şekil 4.6. Finch TV programında DNA dizilerinin gösterimi .....	52
Şekil 4.7. BioEdit ve Finch TV programında contig analizi .....	53

Şekil 4.8. MEGA 6.0 programında hizalama .....	53
Şekil 5.1. ITS bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	57
Şekil 5.2. ITS bölgesinin Neighbor-Joining analizi sonucu oluşan ağacı .....	58
Şekil 5.3. <i>trnL</i> -F bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı..	61
Şekil 5.4. <i>trnL</i> -F bölgesinin Neighbor-Joining analizi sonucu oluşan ağacı.....	61
Şekil 5.5. <i>trnL</i> intron bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	64
Şekil 5.6. <i>trnL</i> intron bölgesinin Neighbour-Joining analizi sonucu oluşan ağacı	65
Şekil 5.7. <i>rbcL</i> bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı.....	69
Şekil 5.8. <i>rbcL</i> bölgesinin Neighbour-Joining analizi sonucu oluşan ağacı.....	69



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>Carum</i> L. türlerinin toplandığı lokaliteler.....	40
Çizelge 3.2. Dış grup olarak seçilen <i>Sanicula europaea</i> türüne ait genbank (NCBI) numaraları .....	41
Çizelge 3.3. Çekirdek ITS primerleri ile kloroplast <i>trnL</i> intron, <i>trnL-F</i> ve <i>rbcL</i> bölgesine ait primerlerin dizilimi .....	42
Çizelge 3.4. PCR’de (polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılan kimyasallar .....	43
Çizelge 3.5. ITS primerleri için kullanılan pcr programı .....	45
Çizelge 3.6. <i>trnL-F</i> primerleri için kullanılan pcr programı .....	45
Çizelge 3.7. <i>trnL</i> intron primerleri için kullanılan pcr programı .....	45
Çizelge 3.8. <i>rbcL</i> primerleri için kullanılan pcr programı .....	46
Çizelge 5.1. <i>Carum</i> L. türlerine ait ITS Bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri .....	55
Çizelge 5.2. <i>Carum</i> L. türlerine ait ITS bölgelerinin genetik uzaklık matrisi.....	56
Çizelge 5.3. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>trnL-F</i> bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri .....	59
Çizelge 5.4. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>trnL-F</i> bölgelerinin genetik uzaklık matrisi ...	60
Çizelge 5.5. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>trnL</i> intron bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri .....	62
Çizelge 5.6. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>trnL</i> intron bölgelerinin genetik uzaklık matrisi .....	63
Çizelge 5.7. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>rbcL</i> bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri .....	66
Çizelge 5.8. <i>Carum</i> L. türlerine ait <i>rbcL</i> bölgelerinin genetik uzaklık matrisi .....	68



## 1. GİRİŞ

Türkiye coğrafi konumu, jeomorfolojik yapısı, farklı topoğrafik yapılara ve toprak gruplarına sahip oluşu, çeşitli iklim tiplerini içermesi, İran-Turan, Akdeniz ve Avrupa-Sibiryaya olmak üzere üç farklı bitki coğrafyasının birleştiği yerde bulunması, buzul dönemlerinde canlılar için sığınak olması ve bazı cinslerin gen merkezi olması nedeniyle; ülkemiz üzerinde yayılış gösteren bitki tür çeşitliliği bakımından dünyanın oldukça zengin ve farklı vejetasyon (bitki örtüsü) tiplerini bir arada bulunduran alanlardan birisidir (Davis ve Hedge, 1975; Avcı, 1993; Tosun, 2015).

Ülkemiz flora bölgelerinin sahip olduğu özellikler bitki çeşitliliği açısından büyük önem teşkil etmektedir (Avcı, 2005). Ülkemizin floristik yapısından kaynaklanan bu durum birçok botanikçiyi ülkemiz adına ilgi odağı haline getirerek farklı zamanlarda çok sayıda yabancı botanikçinin ülkemiz bitki çeşitliliği hakkında araştırmalar yapmasına da neden olmuştur. Literatüre kayıtlı birçok araştırmanın çok eski tarihlere dayandığı bilinsede, tüm bu çalışmaların ilk adımını oluşturan bitki toplama amacıyla yapılmış çalışmalar 16 yy. ortalarından itibaren başlamıştır. Ülkemize bu amaç doğrultusunda gelen ilk araştırmacı Fransız doğa bilimci Pierre Belon (1517-1564)'dur (Baytop, 2004). Anadolu'ya gelerek çeşitli bölgelerden çok miktarda bitki örnekleri toplayarak oluşturduğu koleksiyonları Avrupa herbaryumlarına ve araştırmacı botanistlere dağıtan yabancı gezginlerden bir diğeri de Fransız asıllı Benjamin Balansa'dır. Balansa, oluşturduğu zengin koleksiyonu sayesinde; Cenevre'de ülkemiz florası ile ilgili ilk önemli eser olan *Flora Orientalis*'in (1867-1888), Edinburgh'da ülkemiz bitki çeşitliliği ile ilgili en önemli eser olan *Flora of Turkey*'in (1965-1985) hazırlanmasında vazgeçilmez bir kaynak teşkil etmiştir (Baytop ve Nicolas, 2006).

Ülkemiz florası ile ilgili ilk önemli eser İsviçreli botanikçi Pierre Edmond Boissier'in 1867-1888 yılları arasında yayınlanan 5 ana ve 1 ek cilt olmak üzere toplam 6 ciltten oluşan *Flora Orientalis* adlı eseridir (Boissier, 1867-1884; Boissier, 1888; Baytop, 2006). Ülkemiz bitki çeşitliliği ile ilgili en önemli eser ise, *Flora Orientalis*'den tam bir asır sonra yazılan, 1938 yılından itibaren ülkemizde araştırmalarda bulunan aynı zamanda editörlüğünü Peter Hadland Davis'in yaptığı bu araştırmaların sonucu olarak 9 ana ve 1 ek ciltten oluşan "Flora of Turkey and The East Aegean Island" adlı eserdir (Davis, 1965-1985). Bu eserin ilk cildi 1965

yılında, son cildi ise 1988 yılında tamamlanmıştır (Davis vd., 1988). Türkiye Florası'nın yayınlandığı dönemlerden sonra, ülkemizde floristik çalışmalar hız kazanarak Türk botanikçilerin sayısında önemli bir artış meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak da 2000 yılında, Türkiye Florası'nın 2. ek cildi olan 11. cilt yayınlanmıştır (Güner vd., 2000). Ülkemiz florası ile ilgili bir diğer önemli eser ise, 2012 yılında tamamlanan, Türk araştırmacılar tarafından hazırlanmış olan ve Türkiye bitki zenginliğinin tamamını kapsayan, Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) eseridir (Güner vd., 2012). Floranın tamamlanmasının ardından yapılan floristik çalışmalar ve yeni taksonların tanımlanması ile Türkiye florasının tam anlamıyla bitirilemediğini bu amaç doğrultusunda çok sayıda floristik çalışmanın yapılmış olduğunu ve hatta yapılmaya da devam edildiğini ortaya koymuştur (Doğan Güner, 2006; Çelik, 2013).

Yapılan tüm bu çalışmalarla birlikte Türkiye'de doğal olarak yetişen 12.000'den fazla taksonun varlığı ve bunların yaklaşık 3649'unun (3/1'lik oranı) endemik taksonlardan meydana geldiği tanımlanmıştır (Güner vd., 2012). Ülkemiz endemizm bakımından oldukça zengin olmakla beraber bu sayı ile sınırlı kalmayarak, her 10 günde yeni bir endemik takson varlığının keşfiyle daha da artmaktadır (Avcı, 2005; Torlak vd., 2010; Güner vd., 2012; Şenkul ve Kaya, 2017). Ülkemizin endemik tür oranı ve çeşitliliği açısından Orta Doğu'nun en zengin florasına sahip ülke olması durumunu; endemik bitki bakımından en zengin ülke kabul edilen Yunanistan'da bile bu değer 800–1000 arasında oluşu göz önünde bulundurularak anlaşılması mümkündür (Davis, 1965-1985; Ekim, 1995; Kendir ve Güvenç, 2010). Günümüzde Türkiye'nin tamamını kapsayacak ölçekte flora çalışmaları halen devam etmekte olup ülkemizdeki sistematik botanik çalışmalarının hız kazanması ile pek çok cinsin taksonomik revizyonu yapılmaya başlanmış ve bazıları tamamlanmıştır (Güner vd., 2012; Şenkul ve Kaya, 2017). Özellikle taksonomik problemlere odaklanmış olan botanikçiler, yaptıkları revizyonlarda, morfolojik karakterlere ek olarak çalıştıkları grupların sistematikğine katkı sağlayacak, anatomik, palinolojik ve son yıllarda da DNA sekanslarını kullanmaya başlamışlardır (Karakaya, 2018).

Bu çalışma *Carum* L. (Apiaceae) cinsine ait türlerin moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak çekirdek (nrDNA) ITS ve kloroplast (cpDNA) *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* sekansına dayalı filogenetik ilişkileri belirlenmiş ve elde edilen bilgiler ışığında bu cinsin revizyonuna katkı sağlamıştır. Ülkemizde bu cinsine ait

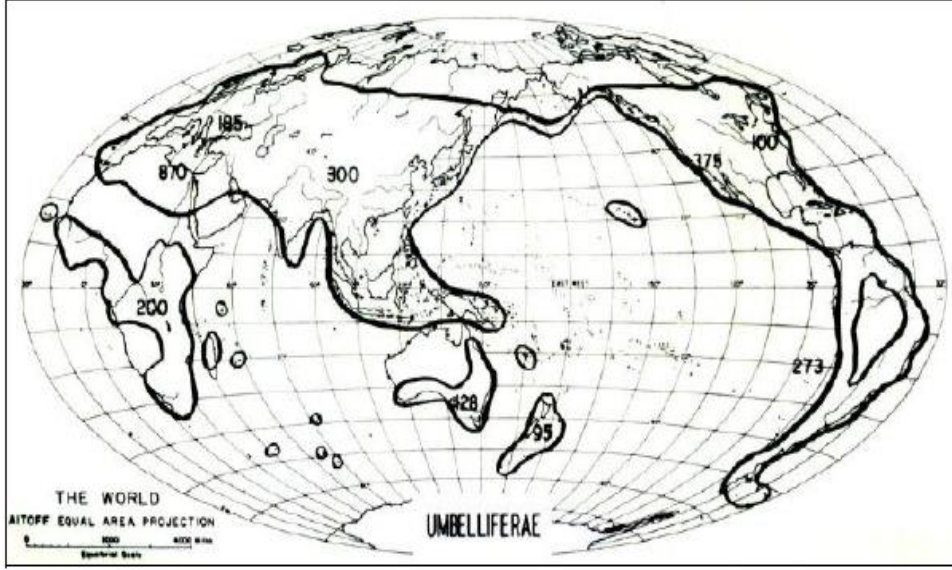
taksonların moleküler taksonomisine ait herhangi bir çalışma bulunmadığı için bu çalışma *Carum* L. (Apiaceae) cinsi türlerine ait sistematik bilgilerin elde edilimi sağlanarak sistematik açıdan önemi belirlenmiştir.

### 1.1. Apiaceae (Umbelliferae) Familyası

Apiaceae familyası adını, Pliny adlı araştırmacının kereviz olarak adlandırdığı *Apium* L. cinsinden almıştır. Bu familyanın literatüre geçen eski Latince adı Umbelliferae, yaygın olarak kullanılan İngilizce adı ise Parsley family yani Maydanozgiller'dir (Heywood vd., 2007). Botanik tarihi açısından incelendiğinde insanlar tarafından tanınan ve kaydedilen ilk doğal bitkilerin bu familyadan olduğu gözlemlenmiştir öyle ki, Apiaceae familyası üyeleri Theophrastus'un "doğal bitki familyası" olarak adlandırdığı familyalardan birisidir (Berenbaum, 2001). Ayrıca familya genel olarak bazı belirgin özelliklere sahip olması nedeniyle "çiçekli bitkilerin teşhisi yapılan ilk familya" olması özelliğine sahiptir (Constance, 1971). Üstelik Robert Morison'un 1672'de "Plantarum Umbelliferarum Distributio Nova" eserinin yayınlaması ile birlikte monografı yapılan ilk çiçekli bitki grubu olmuştur (Morison, 1672; Constance, 1971; Hedge, 1973; Heywood vd., 2007; Tosun, 2015; Demirpolat, 2017). Ayrıca 1970 senesinde İngiltere-Reading Üniversitesi'nde düzenlenen "Biology and Chemistry of the Umbelliferae" isimli uluslararası toplantıyla, sistematik çalışmaların sunulduğu ilk ve tek familya olma özelliğine sahiptir. Bu toplantı sonraki yıllarda da devam etmiş ve Asteraceae, Brassicaceae gibi diğer büyük bitki familyalarıyla ilgili yapılan sempozyumlara da örnek teşkil etmiştir (Watson vd., 2001; Rabei, 2011; Downie vd., 2014). Toplantı serisinin sonuncusu olan "The 8<sup>th</sup> International Symposium on the Apiales" 2014 yılında İstanbul'da gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda Sokrates'in *Conium maculatum* L. infüzyonu içerek zehirlenmesi, bu familyaya ait tarihsel olarak belgelenmiş ilk zehirlenme vakasıdır (Downie vd., 2014; Kızıllar Hançer, 2016).

Apiaceae (Umbelliferae) familyası yaklaşık 455 cins ve 3700 tür içeren kapalı tohumlu bitkiler arasındaki en geniş ve kozmopolit familyalardan biridir (Pimenov ve Leonov, 1993; Hickey ve King, 1997; Yıldız ve Aktoklu, 2012; Kızıllar Hançer, 2016). Dünya genelinde çöller, bataklıklar, subalpin tundralar, stepler, orman altı ve açıklıkları ve açık alanlar gibi çeşitli habitatlarda yayılış gösterebilirler (Berenbaum, 2001). Apiaceae familyasının dünya üzerindeki yayılışı Şekil 1.1.'de verilmiştir. Familyanın bir tanesi Akdeniz bölgesinde bir

tanesi de Batı Amerika ve Meksika'yı kapsayan kısım olmak üzere 2 önemli dağılıma noktası ve gen merkezi bulunmaktadır (Schlessman 1984; Kızıllarslan Hançer, 2016).



Şekil 1.1. Apiaceae familyasının dünya üzerindeki yayılışı (Mathias,1965)

### 1.1.1. Apiaceae Familyasının Taksonomik Özellikleri

Apiaceae familyasının üyeleri genellikle aromatik, bir kısmı zehirli, tek yıllık, iki yıllık, çok yıllık otlar ve nadiren çalimsı bitkilerden oluşmaktadır. Çiçek durumu umbella (şemsiye) şeklindedir. Brakte ve brakteoller çiçek durumu tabanında bir halka şeklindedir. Çiçekler epigin (alt durumlu), hermafrodit veya tek eşeylidir. Sepaller (çanak yaprak) küçük veya yoktur. Petaller (taç yaprak) 5 adet olup serbest, eşit ya da dıştakiler büyük olmakla birlikte renkleri beyaz, sarımsı yeşil, sarı, açık mavi veya pembe. Stamen sayısı 5 adettir. Familyanın en tipik özelliklerinden biri şizokarp tipte olan meyveleridir ve iki ya da nadiren tek karpellidir (Davis, 1972; Yıldız ve Aktoklu, 2012; Yıldırım, 2015). Meyvenin morfolojik ve anatomik özellikleri familya için oldukça önemli ayırt edici karakterlere sahiptir (Akalin Uruşak ve Kızıllarslan, 2013). Familyada merikarp anatomisi aynı cins içerisinde bile çok değişkenlik gösterebilmektedir (Liu vd., 2003a; 2003b; Khajepiri vd., 2010; Wörz ve Diekmann, 2010; Yembaturova vd., 2010; Akalin Uruşak ve Kızıllarslan, 2013; Ghahremaninejad vd., 2014).

Tohumlarda yağlı endosperma bulunmaktadır (Tutin, 1968; Davis, 1972; Meikle, 1977; Saenz Lain, 1981; Hickey ve King, 1997; Pimenov ve Leonov, 2004; Menglan vd., 2005; Ecevit Genç, 2010). Polenleri böcekler vasıtasıyla yayılan entomofil bitkilerdir (Van Wyk vd., 2013; Kızıllarslan Hançer, 2016).

### **1.1.2. Apiaceae Familyasının Çeşitliliği ve Kıtalara Dağılımı**

Apiaceae familyası Dünya’da yaklaşık 455 cins ve 3700 tür ile temsil edilen çiçekli bitkilerin en önemli familyalarından biridir (Pimenov ve Leonov, 1993). Apiaceae familyası içerisinde yer alan cinslerin kıtalara göre dağılımı Asya’da 287, Avrupa’da 139, Afrika’da 126, Kuzey Amerika’da 92, Orta Amerika’da 27, Güney Amerika’da 45 ve Avustralya’da 36 olduğu belirlenmiştir (Kızıllarslan Hançer, 2016).

Apiaceae familyasının en fazla tür içeren Asya kıtası ülkeleri Çin, Türkiye (Anadolu Bölümü), İran, Rusya (Asya Bölümü) ve Kazakistan’dır. Familyaya ait en fazla tür sayısı Çin Florası’nda 108 cinste 677 tür olarak belirlenmiştir. Tür sayısı bakımından ikinci sırada yer alan Türkiye, Çin’ e göre coğrafik açıdan daha küçük olmasına rağmen 101 cins ve 485 tür ile temsil edilmektedir (Davis vd., 1971; Güner vd., 2000; Pimenov ve Leonov, 2004; Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay vd., 2009; Özhatay vd., 2011; Başer ve Kırimer, 2014; Demirpolat, 2017; Büyükkılıç Altınbaşak, 2019). Çin ve Türkiye’den sonra en yüksek tür çeşitliliği ise İran’da görülür. İran’ın doğusunda bulunan Orta Asya ülkeleri de yüksek düzeyde tür çeşitliliğine sahip olup endemik açıdan zengindir. Endemik cinslerin fazlalığı, oldukça kurak düzlüklerle çevrili yüksek dağ sistemlerinin sağlamış olduğu izolasyonun yanı sıra bölgenin sınır yerleşiminin Orta Asya sınırına yakınlığıyla da açıklanabilir. Apiaceae tür çeşitliliği bakımından, Gürcistan, Suriye, Azerbaycan, Irak, Ermenistan ve Lübnan Apiaceae familyasına ait tür sayısı yüksek ülkeler kategorisinde değerlendirilirken Umman, Kuveyt, Birleşik Arap Emirlikleri, Bahreyn ve Katar Apiaceae tür çeşitliliği düşük olan ülkelere dendir (Pimenov ve Leonov, 2004; Çelik, 2013). Bu durum Türkiye’nin Asya’da ve dünya bazında, Apiaceae familyası için tür düzeyindeki en yüksek yoğunluğa sahip ülke olduğunu kanıtlar niteliktedir (Davis vd., 1988; Güner vd., 2000; Pimenov ve Leonov, 2004; Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay vd., 2008-2009; Özhatay vd., 2009; Özhatay vd., 2011).

### 1.1.3. Apiaceae Familyasının Ekonomik ve Tıbbi Önemi

Türkiye florası, bünyesinde barındırdığı tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği ile kendine özgü bir halk tababetine sahiptir. Tıbbi bitkiler yüzyıllardır aktif biyomoleküllerin önemli bir kaynağını oluşturmakta ve drog olarak kullanılan kısımları (yaprak, çiçek, tohum, kök, kabuk vs.) içeriğindeki etkili bileşikler nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Essawi ve Srour, 2000; Özer vd., 2001; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Ülkemizde ticari değeri olan tıbbi ve aromatik bitkiler açısından en zengin olan familyalar; Asteraceae (Compositae), Apiaceae (Umbelliferae) ve Lamiaceae (Labiatae)'dir (Davis, 1984). Apiaceae familyasına ait türlerin tıbbi kullanımı başta gastrointestinal sistem olmak üzere, dolaşım, solunum ve ürogenital sistemler ve bunun yanı sıra sedatif, uyarıcı, antispazmodik ve afrodizyak etkileri bilinmektedir. Bazı türlerinin ise yaralar için topikal uygulamalarda, yanma, haşlanma, böcek sokmaları ve ısırıklarında, deri döküntülerinde kullanıldıkları, nadiren kellik, hıçkırık ve siğillere iyi geldiği, akıl hastaları ve alkol bağımlıları üzerinde de olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (French, 1971; Heywood, 2014). Örneğin *Foeniculum vulgare* Miller olarak bilinen rezene, süt arttırıcı, midevi rahatsızlıklar ve gaz söktürücü olarak kullanılırken, *Pimpinella anisum* L. olarak bilinen anason ise iltihaplara karşı kullanılmaktadır (Christensen ve Brandt, 2006; Demirpolat, 2017). Halk arasında kişniş olarak bilinen *Coriandrum sativum* L., meyve ve yağları gıdalarda tatlandırıcı olarak kullanılmakta, ilaç olarak ise meyvelerinin midevi, diüretik ve afrodizyak özelliklere sahip olduğu nadir de olsa bazı sinir hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Nickhavar ve Abolhasani, 2009). Kürdanotu olarak bilinen *Ammi majus* L. ise ağız ve diş eti ağrısı giderici, Boğadikenini olarak bilinen *Eryngium* L. bitkilerinin ise öksürük kesici, diüretik uyarıcı, iştah açıcı, şeker kontrolünü sağladığı ve afrodizyak etkileri olduğu, Keçiayağı (*Aegopodium podagraria* L.) bitkisinin ise halk arasında romatizma ve siyatik ağrılarına iyi gelen şifalı ot olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Ayanoğlu vd., 1999; Çağın, 2005; Demirpolat, 2017).

Apiaceae familyası içeriğindeki zengin sekonder metabolitleri sebebiyle bilim insanlarının ilgisini çekmekte ve halk arasında kullanımları daha da yaygın hale gelmektedir. Familya özellikle flavonoidler, fenilpropanoidler, furanokumarinler, terpenler ve poliasetilenler bakımından oldukça zengindir. Sistematik açıdan bakıldığında neredeyse tüm türlerin flavonon veya flavon taşıdığı tespit edilmiştir



(Saleh vd., 1983; Crowden vd., 1969; Abdulmanea vd., 2012). Familya üyelerinde bulunan yüksek antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşikler (flavonoitler ve fenolik asitler) insan beslenmesinin vazgeçilmez bir parçası olup kanser, arteriyoskleroz, iskemi, enflamatuvar hastalıklar gibi sağlık sorunlarıyla mücadelede oldukça önemli bir paydaya sahiptir (Pandey vd., 2012). Poliasetilen olan falkarinol'ün sağlık üzerine olumlu etkileri kanıtlanmış olup özellikle gıda olarak kullanılan Apiaceae bitkilerinde (*Daucus carota* L. /havuç, *Apium graveolens* L. /kereviz, *Petroselinum crispum* Mill. /maydanoz) yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir (Christensen ve Brandt, 2006; Kızıllarslan Hançer, 2016). Bitkilerden elde edilen uçucu yağların antiviral, antibakteriyel, antifungal etkileri ve uçucu yağların yanı sıra, yağ asitlerinin de bazı biyolojik aktivitelerinin olduğu gözlemlenmiştir (Doganca vd., 1979; Iacobellis vd., 2005; Hema vd., 2011; Raal vd., 2012). Ayrıca familya dünyada ekonomik öneme sahip çok sayıda bitki barındırmaktadır. Özellikle besin kaynağı, baharat ve hayvan yemi şeklinde kullanımının yanı sıra park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan türleri de mevcuttur. İçerdikleri alkaloidler ve reçineler nedeniyle tıpta (özellikle barsak rahatsızlıkları) ve kozmetik alanında yaygın kullanıma sahiptirler (Doğan Güner, 2006; Yıldız ve Aktoklu, 2012). Bunun yanı sıra *Conium maculatum* L. (baldıran), *Aethusa cynapium* L. (köpek maydanozu), *Cicuta virosa* L. (su baldıranı) ve *Oenanthe crocata* L. (baldıran otu) gibi zehirli türleri de bulunmaktadır. Bu durum familyanın ayırt edici kimyasal yapısının geniş bir yelpazede ekonomik önem ve tıbbi kullanım alanına sahip olduğunun bir göstergesidir (Ball vd., 1987; Baytop vd., 1989; Bennett, 2010; Rabei, 2011; Heywood, 2014; Kızıllarslan Hançer, 2016).

## 1.2. Türkiye’de Apiaceae Familyası

Türkiye’de Apiaceae familyasına ait 101 cins ve 485 tür bulunmaktadır. Bu türlerin 181’i endemiktir. Endemizm oranı ise yaklaşık olarak %37,3’dür. Apiaceae familyası endemizm oranının yüksek olması sebebiyle ilgi çekici familyalar arasında yer almaktadır (Güner vd., 2000; Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay vd., 2008-2009; Güner vd., 2012; Başer ve Kıvrımer, 2014; Yıldırım ve Duman, 2017; Büyükkılıç Altınbaşak, 2019).

Apiaceae familyası, cins sayısı bakımından Türkiye’de Poaceae (Graminae) ve Asteraceae’den (Compositae) sonra 3. büyük, tür sayısı bakımından ise en çok tür

içeren 8. büyük familyadır (Davis vd., 1988; Özhatay vd., 2008-2009; Güner vd., 2012).

Türkiye’de yayılış gösteren Apiaceae familyası taksonlarının cins ve tür sayıları bakımından coğrafi bölgelere dağılımı düzenli değildir. Beş coğrafi bölge içerisinde Doğu Anadolu ve Güneybatı Anadolu en yüksek tür çeşitliliğine sahip bölgelerdir. Özellikle Doğu Anadolu’da 80 cinsten 242 tür bulunmakta ve bu türlerden 15’inin endemik olduğu bilinmektedir. Güneybatı Anadolu’da 82 cinsten 251 tür, Orta Anadolu’da 80 cinsten 221 tür, Kuzey Anadolu’da 74 cinsten 185 tür ve Batı Anadolu’da ise 64 cinsten 132 tür bulunmaktadır (Pimenov ve Leonov, 2004).

### 1.3. *Carum* L. Genel Özellikleri

*Carum* L., Apiaceae familyasına ait, geleneksel cinslerden biridir. Cins (Linnaeus, 1753) monospesifik olarak *Carum carvi* L. türü ile tanımlanmaktadır (Papini vd., 2007; Zakharova, 2010). Uluslararası Bitki Adları Endeksine göre bugün *Carum*'da geçerli olarak yayınlanmış yaklaşık 200 tür adı bulunmakta ve günümüzde yaklaşık 30 tür kabul edilmekle birlikte konumlandığı familyaya ait bazı üyeler gibi, tür bileşimi tartışmalı olan bir cinstir (Pimenov ve Leonov, 1993; Zakharova, 2010). *Carum* L., oldukça basit meyve yapısına sahiptir ve içerisinde bulunduğu familya üyelerinin birbirlerine benzerlikleri nedeniyle farklı ülkelerden ve kıtalardan çok sayıda tür, *Carum* L. içerisinde tanımlanmıştır (Papini vd., 2007; Zakharova, 2010). Apiaceae ailesinin bir üyesi olan *Carum carvi* L. aromatik bir bitki olup uçucu yağ bakımından da oldukça zengindir. *Carum carvi* L. tohumlarındaki yağların ana bileşenlerini karvon ve limonen oluşturmaktadır. Ayrıca gıda ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak uygulanan popüler bitki gruplarından (Laribi vd., 2009; Raal vd., 2012).

Apiaceae familyası üyelerinden olan *Carum* L. cinsi ülkemizde 5 türle temsil edilmektedir (Güner vd., 2012). Bunlar;

- *Carum carvi*/kimyon,
- *Carum meifolium*/bağdanaz,
- *Carum caucasicum*/halal,
- *Carum leucocoleon*/keraviye,
- *Carum rupicola*/kaya kimyonu’dur.

### 1.3.1. *Carum* L. Taksonlarına Ait Morfolojik Özellikler

*Carum* L. taksonlarında kök odunsudur, gövde dik ve çok yıllıktır. Yaprakların büyüklüğü ve şekli birbirinden farklı olmakla birlikte ayırt edici karakterler sağlamaktadır. Çiçek durumu umbella (şemsiye) şeklindedir. Umbellaları oluşturan ışınların sayısı, uzunlukları ve yüzey özellikleri tür düzeyinde farklılık göstermektedir. Işın uzunlukları hemen hemen eşit veya farklı uzunlukta olup ışın yüzeyleri genellikle tüysüzdür. Brakte ve brakteollerin sayısı, şekli, büyüklüğü ve durumu ayırt edici bir diğer karakterlerden olup *Carum* L. taksonlarında brakte ve brakteoller basit veya hiç yoktur. Petaller beyaz veya pembe renktedir. Meyve yüzeyi tüysüzdür. Çayırılık yerler, alpinik stepler ve kayalık yamaçlarda yayılış göstermektedirler (Davis, 1972).

### 1.4. Moleküler Sistemik

Bilimsel yöntemler kullanılarak, canlıların bireysel benzerlik ve farklılıklarının geniş bir bakış açısı ile incelenerek sınıflandırılması, asırlar önce başlayarak günümüzde de halen devam eden bir süreçtir. Hayatın çeşitliliği ve yayılımıyla ilgili olayların modelini ortaya çıkartarak ilgili ağacın yeniden yapılandırılmasını içine alan biyoloji sahası sistemik olarak nitelendirilmektedir (Quicke, 1993). Sistematin amacı, türemiş (apomorfik) karakterler kullanarak ortak ata ilişkisini yeniden düzenleyerek, taksonları ortak ata temelinde gruplandırmaktır (Dupuis, 1984). Başka bir deyişle, organizmalar arasındaki evrimsel geçmiş ile birbirleriyle olan ilişkileri belirleyerek (filogeni) organizmaların sınıflandırılmasında da bu bilgilerin kullanımını sağlamaktır (Çebi Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Moleküler sistemik çalışmaları DNA ve proteinde meydana gelen değişikliklerin hızını ve karakterini saptamaya yöneliktir. Canlılar arasındaki akrabalık dereceleri moleküler sistemik incelemeler ile belirlenerek çeşitli istatistiksel analizler sonucu filogenetik ağaca dönüştürülür (Saitou ve İmanishi, 1989; Gören, 2011). Son yıllarda moleküler biyoloji ve genetik alanında yaşanan baş döndürücü gelişmeler sistemik alanında yeni tekniklerin ortaya çıkışını kaçınılmaz hale getirerek bu alanda yapılan çalışmaların, filogenetik bir ağaçla bağlantısının kurulması, son 50 yılın en önemli keşiflerinden birini oluşturmaktadır (Lipscomb, 1998; Çebi Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Moleküler bitki sistematigi çalışmlarında genellikle kloroplast (plastid), mitokondri genleri veya çok tekrarlı nüklear ribozomal DNA (nrDNA) genleri kullanılmaktadır (Qui vd., 1999; Graham ve Olmstead, 2000; İnal ve Karaca, 2019).

#### **1.4.1. Moleküler Sistematikte Kullanılan DNA Çeşitleri**

Bitki sistematigi çalışmlarında ve filogenetik analizlerde kullanılan DNA çeşitleri en çok kullanılan moleküler verilerdir. Bunlar;

- Çekirdek DNA'sı (nrDNA),
- Kloroplast DNA'sı (cpDNA)
- Mitokondri DNA'sı (mtDNA).

Bitki moleküler sistematiginde kullanılan genetik materyaller, replikasyon modeli ve tamiri bakımından birtakım farklılıklar ile birbirlerinden ayrılmaktadır (Tez, 2011). Çekirdek DNA (nrDNA), ata bireylerden yeni nesillere karyokinez (çekirdek) bölünmesi ile eşeyli ve eşeysiz olarak aktarılan lineer bir yapıya sahip iken, kloroplast ve mitokondri DNA ise çekirdekten bağımsız olarak bölünerek eşeysiz olarak yeni nesillere aktarılan dairesel bir yapıya sahiptir (Schmitz, 1988). Kloroplast ve mitokondri DNA'sı, çekirdek DNA'sının kromozom şeklindeki organizasyonunda gerekli olan histon proteinlerini bulundurmaz, bu nedenle de DNA'da nükleozom şeklindeki paketlenme yoktur ve nasıl paketlendiği hala tam olarak çözülebilmüş değildir. Çekirdek DNA'sı her yeni jenerasyonda krossing-over (homolog rekombinasyon)'dan ötürü en az %50 oranında değişime (yeniden düzenlenen) uğrar fakat kloroplast ve mitokondri DNA'sında krossing-over (homolog rekombinasyon) oluşumu gözlenmediğinden dolayı değişim de söz konusu değildir. Ancak, kopyalama hatalarını kontrol etmeye yarayan bir sistem olmamasından kaynaklı mitokondri ve kloroplast DNA'larında, çekirdek DNA'sına oranla daha hızlı varyasyonlar (genetik çeşitlilikler) gerçekleşmekte ve bununla birlikte kloroplast ve mitokondri DNA üzerindeki birçok özel gen bölgesinden yarar sağlanmaktadır. Özellikle daha önceden bilinen ve klasik taksonomik yöntemlerle sistematik açıdan çözüme kavuşturulamayan birçok problem, moleküler verilerden elde edilen deliller sayesinde çözüm odağı haline gelmiştir (Tez, 2011; Sancar, 2017; Delipoyraz, 2018).

### 1.4.1.1. Çekirdek DNA'sı (nrDNA)

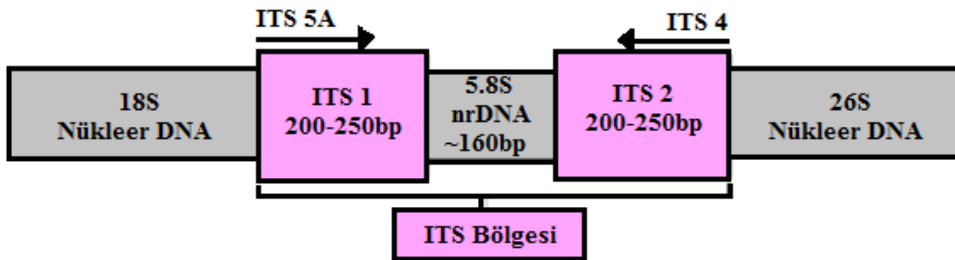
Çekirdek genomu sistematik ve filogenetik açıdan oldukça bilgilendirici olmakla birlikte genom büyüklüğünün farklı organizmalar arasında çeşitlilik oluşturması bunun bir göstergesi olarak nitelendirilmektedir (Özcan vd., 2001). Bitki hücre çekirdeği genomunun sahip olduğu çeşitliliğin kaynağını poliploidi, gen duplikasyonu/silinmesi ve mutasyonlar oluşturmaktadır. Genetik sürüklenme de çeşitliliğe sebep olan diğer faktörler arasında yer almaktadır. Kromozom sayısı ve karyotipteki varyasyonlar bitki gelişiminin incelenmesi açısından oldukça önemli veri kaynağı sağlamaktadırlar (Zhang ve Sang, 1999; Gören, 2011). Haploid genomdaki toplam DNA miktarına "C değeri" adı verilmekte ve bu değer farklı türler arasında çok büyük varyasyon göstermektedir. Toplam DNA'nın %5-10'undan daha azı proteinleri kodlamak için gerekmede ve çekirdek genomundaki bu fazlalık ise C- değeri paradoksu olarak nitelendirilmektedir (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003).

Çekirdek genomunun moleküler sistematik düzeyindeki çalışmalarında genomik DNA üzerinde bulunan ribozomal RNA (rRNA)'ları kodlayan çekirdek rDNA genleri kullanılmaktadır (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003). Ribozomal RNA'lar ribozomların hem yapısal hem de fonksiyonel parçalarıdır. Bu sebeple çekirdek genomu üzerinde yer alan rRNA genleri, akrabalık ilişkilerini açıklama hususunda oldukça önemli bir paya sahiptirler. Ökaryot organizmalarda yaklaşık olarak 5000 kopya içeren nrRNA, küçük altbirim (SSU), büyük alt birim (LSU) ve 5,8S rDNA'lerden meydana gelmektedir. Bu iki altbirim iki dış kodlanabilen (ETS) ve bir kodlanmayan (NTS) bölgeleri ile birbirlerinden ayrılmaktadır. Küçük alt birim rRNA (SSU) oldukça iyi korunmuş DNA bölgesi olup, alem, şube, sınıf ya da takım bazında filogenetik ilişkilerin değerlendirilmesi hususunda kullanılırken, büyük alt birim rRNA (LSU) ise daha büyük ve değişken olduğundan aile ve takım seviyesindeki ilişkilerin açıklanmasında kullanılmaktadır (Bruns vd., 1991; Lee ve Taylor, 1992; Hershkovitz ve Lewis, 1996; Yu vd., 1999; Kundakçı, 2017). Ribozomal RNA'lar ardışık tekrarlanan gen aileleri olan ribozomal DNA'lardan kopyalanırlar ancak asla çevrilmezler. Bu gen ailesinin her bir üyesi, kromozom boyunca sırayla üç ayrı molekülü kodlamaktadır. Bunlar: 18S, 5.8S ve 28S rRNA'lardır. Bakteriyel hücreler için; 16S, 23S ve 5S rRNA'lar, mitokondri için 16S ve 12S ve kloroplastlar için 16S, 23S, 5S ve 4.5S rRNA'lar karakteristik birimler olmakla birlikte moleküler çalışmalar için yararlı bir araç oldukları

kanıtlanmış bilgiler arasındadır (Doyle vd., 1985; Ainouche ve Bayer, 1999; Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003). Ayrıca ökaryotik organizmalarda 5,8S gen bölgesi genel olarak ITS bölgeleri ile bir arada değerlendirilmekte birlikte bu bölgenin toplam uzunluğunun yaklaşık olarak 700 nükleotit çifti büyüklüğünde olduğu bilinmektedir (Şekil 1.2). Çok sayıda takson içeren gruplarda kodlama yapan 5.8S bölgesi ve kodlama yapmayan ITS1, ITS2 bölgeleri DNA dizileme çalışmalarında türlere özgü markör olarak kullanılmaktadır (Liu ve Schardl, 1994; Ivanova vd., 1999; Degreef vd., 2009). ITS gen bölgesi korunmuş rDNA bölgesine oranla morfolojik olarak da taksonlar arasında varyasyon gösterdiği için genetik uzaklıklarla ilgili baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki akrabalık dereceleri belirlenebilmekte ve filogenetik çalışmalar açısından oldukça önemli olup sıklıkla tercih edilmektedir (Dubouzet ve Shinoda, 1999; Kundakçı, 2017).

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

ITS bölgesi, genomik DNA üzerindeki rDNA tekrarları içine yerleşmiş ve rDNA'nın alt birimleri ile transkribe edilerek korunmuş bölgeleri (18S, 5.8S ve 28S) birbirinden ayıran iki kısımdan (ITS1 ve ITS2) meydana gelmektedir (Baldwin vd., 1995). rDNA lokusu 5' → 3' doğru okunduğunda; 5' ETS, 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rRNA ve son olarak da 3' ETS kısımlarından meydana gelmektedir (Şekil 1.2). Bu bölgenin büyüklüğü kapalı tohumlu bitkilerde 565–700 bp (baz çifti) arasında değişiklik gösterirken açık tohumlu bitkilerde ise 1500 ile 3125 nükleotit çiftine kadar çıkabilmektedir (Rodgers ve Bendich, 1987; Jorgensen ve Cluster, 1988; Gardes ve Bruns, 1993; Baldwin vd., 1995; Gernandt ve Liston, 1999; Kundakçı, 2017).



Şekil 1.2. nrDNA'nın ITS bölgesi (White vd., 1990)

Ökaryotik organizmalarda iki adet ITS bölgesi bulunmakta ve bu bölgenin ve her iki tarafında da korunmuş diziler yer almaktadır. ITS1, 18S(SSU) ve 5.8S rDNA bölgeleri arasında konumlanırken ITS2, 5.8S ve 28S(LSU) rDNA bölgeleri arasında yer alır. Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine bağlanabilen evrensel primerler (ITS1, ITS2, ITS3, ITS4 ve ITS5) kullanılarak PCR teknolojisi sayesinde kolay ve hızlı bir şekilde çoğaltılabilmektedir (Baldwin vd., 1995; Baldwin ve Markos, 1998; Gernandt ve Liston, 1999; Kundakç1, 2017).

#### 1.4.1.1.2 ITS Bölgesinin Genel Özellikleri

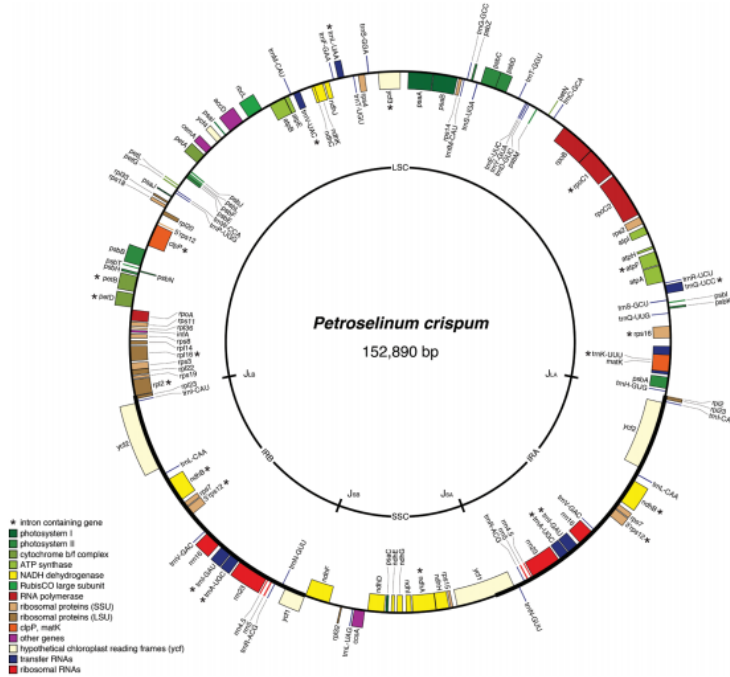
- Filogenetiğin yeniden inşasında yeterli oranda açıklayıcı veri sunacak kadar uygun büyüklüğe sahip olup evrensel tek bir primer çifti kullanımıyla PCR ile kolaylıkla çoğaltılabilmektedirler (500-800 bç).
- Genomik DNA üzerinde yüksek kopya sayısına sahiptirler.
- Cins ve tür içi seviyelerde önemli oranda korunmuş olan rDNA gen bölgelerine komşu pozisyonda yer almaktadırlar.
- rDNA gen bölgelerine göre daha hızlı nükleotit baz değişimi gösterirler.
- rDNA'nın olgun 18S, 5.8S ve 28S alt birimlerinin oluşumu sürecinde görev almaktadır.
- Ökaryotik organizmalarda 5.8S gen bölgesi, çoğunlukla ITS bölgeleri ile birlikte değerlendirilir. Tüm bu bölgenin uzunluğu yaklaşık olarak 600-700 bç arasında değişkenlik göstermektedir (Baldwin vd., 1995).

#### 1.4.1.2. Kloroplast DNA (cpDNA)

Kloroplast DNA'sı 1960'lı yıllarda çekirdek DNA'sından farklı özelliklere sahip bir molekül olarak ortaya çıkartılmış, bitki moleküler sistematik çalışmaları için birincil veri kaynağını teşkil etmektedir (Baldwin, 1992; Baldwin vd., 1995; Shaw, 2000; Alvarez ve Wendel, 2003; Shaw vd., 2005). Kloroplastlar da mitokondriler gibi kendi genetik sistemlerine sahip organelleri olması sebebiyle benzerdirler. Yapısal olarak prokaryot organizmaların genomuna benzer ve kendilerine ait ribozomları sayesinde hem kendini çoğaltır hem de bazı proteinlerin üretimini gerçekleştirirler (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Delipoyraz, 2018). Ayrıca kloroplast DNA'sının, nüklear DNA'ya göre çok daha düşük mutasyon oranına sahip olması ve çok fazla kodlanmayan bölge içermediği için nüklear genoma göre

evrimleşme hızının çok daha yavaş değişim gösterdiği bilinmektedir (Taberlet vd., 1991; Soltis vd., 1997; Pillay ve Mazzella, 1997).

Kloroplastlar halkasal bir DNA molekülüne, 120-160 kb uzunluğa ve üzerinde yaklaşık olarak 120 gen bulunduran korunmuş bir yapıdan oluşmaktadırlar (Şekil 1.3). Ayrıca farklı türlere göre istisnai olarak 120 ila 217 kb arasında değişiklik gösterebilmektedirler (Olmstead ve Palmer, 1994). Kloroplast DNA'sı yarı korunumlu olarak kendini eşler ve replike edilen DNA anne tarafından kalıtılır (Frey vd., 1999; Yıldırım ve Kandemir, 2001; Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003). Kloroplast DNA'sının kalıtım biçiminin maternal olması sebebi ile genetik çeşitlilik ve evrim çalışmalarında kullanılması da oldukça elverişlidir. Kloroplast DNA'sının gen dizilimi ve genom boyutunun çok iyi bir şekilde korunmuş olması pek çok bitkide kodlanmayan bölgelerin amplifikasyonunda kullanılan, evrensel primer çiftlerinin tasarlanmasında da büyük olanak sağlamıştır (Taberlet vd., 1991).



Şekil 1.3. Kloroplast DNA'nın sirküler (halkasal) dublex yapısı ve bölgeleri (Downie vd., 2014)

Kloroplast genomu fonksiyonel olarak 3 gruba ayrılmaktadır.

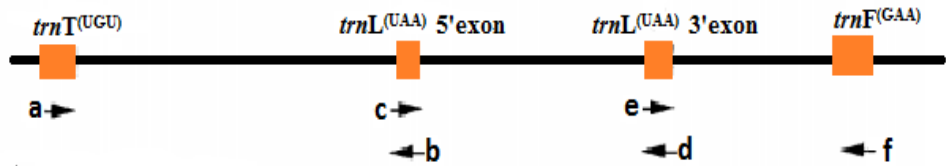


- Kodlama yapmayan bölgeler
- Protein kodlayan bölgeler
- İntronlar (Clegg vd., 1994).

Protein kodlayan bölgelerde kloroplastın kendi işleyişindeki genler; bioenerjitik ve fotosentetik işlerde görevli genler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar (Sugiura, 1995). Kloroplast DNA'nın intronları ve genler arası kesim bölgeleri gibi kodlanmayan kısımlar, kodlanan kısımlara oranla değişime daha yatkındır (Xu vd., 2000). Kodlanmayan bölgelerin bilgi karakter potansiyelinin kodlanan bölgelere göre daha fazla olması nedeniyle taksonlar arası filogenetik çalışmalarda ve bitki barkot çalışmalarında daha popüler bir payda da yer almaktadırlar (Downie vd., 2000; Kalmer ve Tekpınar, 2017).

#### 1.4.1.2.1. *trnL-trnF* (Genler Arası Boşluk)

Kloroplast *trnL-F* boşluğu, ardı ardına dizilmiş ve kodlama yapmayan bölgelerle ayrılmış biçimde düzenlenim gösteren yüksek oranda korunmuş ekzon bölgesi olan ve Lösin [*(trnL)*] aminoasidini kodlayan genin *trnL*<sup>(UAA)</sup> 3' ekzonu ile Feninalanın [*(trnF)*] aminoasidini kodlayan *trnF*<sup>(GAA)</sup> geni arasında yer almaktadır (Şekil 1.4) (Taberlet vd., 1991; Gielly ve Taberlet, 1994; Gielly ve Taberlet, 1996; Liu vd., 2006). *trnL-F* bölgesinin *rbcL*'e göre evrimsel hızı yaklaşık 3 kat daha fazla olup bu bölgeler çok kolay bir şekilde çoğaltılıp, dizilenebilmekte bu sayede filogenetik çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılarak sistematik çözümlemelere ışık tutmaktadır (Taberlet vd., 1991; Yang ve Pak, 2006).

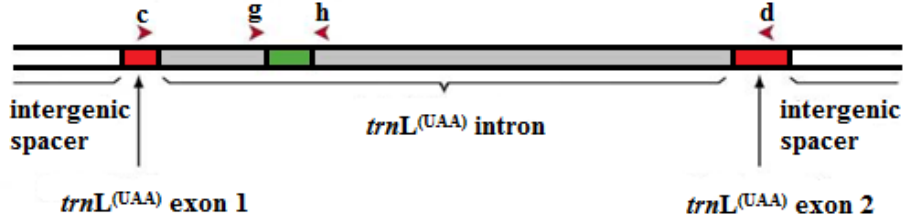


Şekil 1.4. Kloroplast DNA'nın *trnL-F* bölgesi (Taberlet vd., 1991)

#### 1.4.1.2.2. *trnL* intron

*trnL* geni yüksek oranda korunmuş iki ekzon bölgesi içerir; bu ekzonlar grup I intron tarafından ayrılır. Bu ayrılmada her iki yanda bulunan kısımlar oldukça

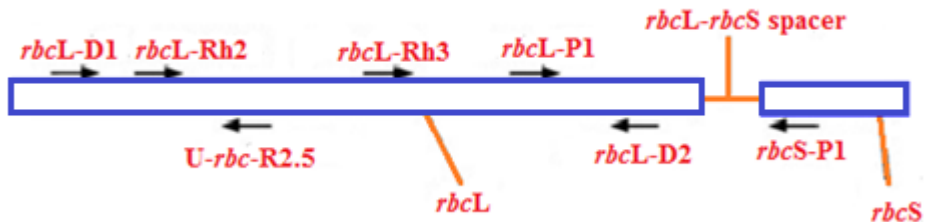
korunumlu iken merkezi kısım büyük ölçüde değişkendir (Bakker vd., 2000). Bu değişken bölgenin nükleotid sayısı 350-600bp arasında değişmektedir ve filogenetik çalışmalarda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Şekil 1.5) (Soltis vd., 1998).



Şekil 1.5. Kloroplast DNA'nın *trnL* intron bölgesi (Taberlet vd., 2007)

#### 1.4.1.2.3. *rbcL*

*rbcL* geni, kloroplast genomunun büyük bir kopya bölgesinde bulunur ve ribuloz 1,5-bisfosfat karboksilaz / oksijenazın (RuBisCO) büyük alt birimini kodlar; RuBisCO'nun küçük alt birimi, bir nükleer gen olan *rbcS* tarafından kodlanır (Şekil 1.6) (Soltis vd., 1998). *rbcL* geni, kolayca kopyalanabildiği için evrim, filogeni, biyocoğrafya, popülasyon genetiği ve sistematiki çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta ve genetik benzerlik veya farklılıkları ortaya koymaktadır (Gielly ve Taberlet, 1994; Doyle vd., 1997; Ji vd., 2008; Wongsawad ve Peerapornpisal, 2014; Özakman, 2018). Bu gen, bitkilerde veya hayvanlarda DNA'nın en sık dizilenen segmentleri arasında yer almakta ve tipik olarak 1,428, 1,431 veya 1,434bp uzunluğundadır. Ayrıca indel mutasyonlarda (ekleme veya silme) oldukça ender görülmektedir (Soltis vd., 1998).



Şekil 1.6. cpDNA *rbcL* bölgelerinin gösterimi (Win vd., 2008)

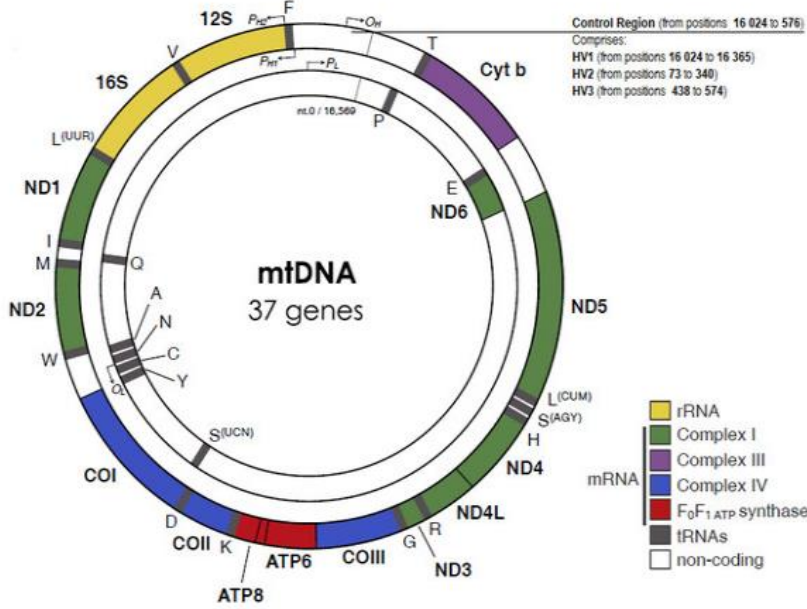
Kloroplast DNA'nın mutasyonel etkin noktasındaki *rbcL*'ye yakın kodlama yapmayan noktada gen dönüşümünden sorumlu olan RuBisCO, bitkilerdeki atmosferik CO<sub>2</sub> alımını katalize eder (Portis, 1992; Subramani ve Hwa, 2010; Sevindik, 2018). Bu enzim, 3- fosfogliserattan 2 molekül oluşur ve bu moleküller ATP tarafından fosforile edilip, NADPH tarafından da indirgenerek gliseraldehit-3-fosfat oluşur. Bunlardan bazıları glukoz ve fruktoz üretirken, kalanı ise RuBP'nin yenilenmesinde kullanılan reaksiyonda substrat olarak görev almaktadır (Freeman vd., 2010; Özakman, 2018). RuBisCO aynı zamanda, O<sub>2</sub>'nin RuBP'ye katılmasını katalize eder. Eğer yeteri kadar O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> varsa, CO<sub>2</sub> akışı indirgenir ve RuBP'nin O<sub>2</sub> ile reaksiyona girmesi fotorespirasyonda sona erer. Bu durum ATP alışverişine göre fotosentez oranını düşürür (Harris vd., 1983). Aynı zamanda, CO<sub>2</sub>, genelde karbon sabitlemek için üretilir (Freeman vd., 2010). Atmosferdeki denge değişerek fotosentez devam eder ve fotosentez yapan organizma bu yeteneğini kaybetmez. Bu da bizlere *rbcL* genini kullanarak genin değişebildiğini göstererek aynı zamanda RuBisCO; D-ribuloz 1,5-bifosfat, karbon dioksit sabitleşiminde fotorespirasyondaki pentozu oksidatif parçalanmasında rol oynayarak reaksiyonu katalize eder (Ye vd., 2017; Özakman, 2018).

#### 1.4.1.3. Mitokondriyal DNA (mtDNA)

Mitokondriyal DNA (mtDNA), yüzlerce protein içeren mitokondri içerisinde lokalize olmuş, halkasal DNA molekülüdür (Şekil 1.7) (Gu vd., 2003; Kartavtsev vd., 2007). Nüklear ve ribozomal DNA' nın aksine, mtDNA anne tarafından kalıtılır ve replikasyonu yarı korunumludur (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003).

mtDNA, çok yüksek oranda korunmuş evrimsel dizilere sahiptir. Sistemik amaçlar için kullanılan diziler yüksek çeşitlilikte olup kodlama yapmayan bölgede bulunurlar (Gülbitti Onarıcı ve Sümer, 2003). mtDNA, boyutunun küçüklüğü ve yüksek oranda korunmuş yapısı dolayısıyla popülasyonlar, türler ve daha üst taksonomik seviyelerin evrimsel ilişkilerini belirlemede oldukça uygun moleküller olması sebebiyle sıkça tercih edilmektedirler (Su vd., 1999). Bitkiler alemindeki mitokondriyal genom, yapısı ve büyüklüğü bakımından çoğu ökaryottan daha fazla değişkenlik göstermektedir (Wolstenholme ve Fauron, 1995). Hayvanlarda mtDNA 16,000-18,000 baz çiftinden oluşurken, bitkilerde mtDNA daha büyük ve oldukça uç noktalardaki limitlerde çeşitlilik göstermektedir. Mitokondriyal genomların büyüklüğü, yapısı ve gen sırası, angiospermlerde büyük farklılıklar

gösterir; dolayısıyla, bütün bir genomu içeren analizler zor ve kısıtlı olmaktadır (Olmstead ve Palmer, 1994).



Şekil 1.7. Mitokondriyal DNA genomu ve etiketlenmiş kontrol bölgeleri (Picard vd., 2016)

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 yapmaktadır. 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
- Nükleotid değişim hızı yavaştır (Soltis vd., 1998).

## **1.5. Biyoinformatik Analiz**

### **1.5.1. Biyoinformatik**

Biyoinformatik, biyolojik bilgilerin oluşturulması ve saklanması için veri tabanlarının oluşturulması ve biyolojik problemlerin çözümünde bilişim teknolojilerinin kullanılması esasına dayanan, uygulamalı bir bilim ve disiplinler arası bir araştırma alanıdır (Luscombe, 2001; Bayat, 2002). Biyoinformatik, yaşam ve bilgisayar bilimleri arasında bir köprü kurmakla birlikte, verilerin son derece etkin bir şekilde toplanması ve adımları hızlandırması nedeniyle son derece önem teşkil etmektedir (Feagan vd. 2007; Polat ve Karahan, 2009).

Biyoinformatiğin amacı, biyolojik deneyler ve gözlemsel çalışmalardan elde edilen verileri araştırmacıların kolaylıkla ulaşabileceği şekilde düzenli biçimde depolamak ve yeni veriler üretildikçe hızlı bir şekilde kayıt altına alarak analiz edilmesine ve yorumlanmasına olanak sağlamaktır. Bu anlamda, biyolojik verilerin idaresi ve analizine yönelik, veri tabanlarının oluşturulmasını, algoritmaların geliştirilmesini, hesaplamalı ve istatistiksel yaklaşımların oluşturularak anlamlı bilgiler haline dönüştürülmesini kapsamaktadır (Baldi ve Brunak, 2001; Baxevanis ve Ouellette, 2001; Atalay, 2002; Kaya vd., 2010; Akgül, 2014).

### **1.5.2. Biyolojik Veri Tabanları ve Programları**

Biyolojik bir veri tabanı, biyolojik bilgilerin oluşturulması, saklanması ve sistemde depolanan bileşenlerin güncellenebilmesi için tasarlanmış bilgisayar yazılımı ile ilişkili bütünlük sağlayan veri yığınlarından oluşmaktadır. Günümüzde bilginin toplanıp depolanması için kullanılan ve etkili erişime olanak sağlayan en geçerli yoldur. Veri tabanlarının oluşturulması biyoinformatiğin gelişmesine neden olarak daha kapsamlı çalışmalar için zemin hazırlamıştır. Bu bağlamda milyonlarca nükleotidin depolanması ve organizasyonu için veri tabanlarının oluşturulması, araştırmacıların bu bilgilere ulaşabilmesi ve yeni veriler girebilmeleri için oluşturulan ilk aşamadır (Atalay, 2002; Bayat, 2002; Polat ve Karahan, 2009;

Kaya vd., 2010). Biyoinformatikte kullanılabilir nükleotid dizilerini açıkça gösterebilen üç temel veritabanı mevcuttur. Bunlar:

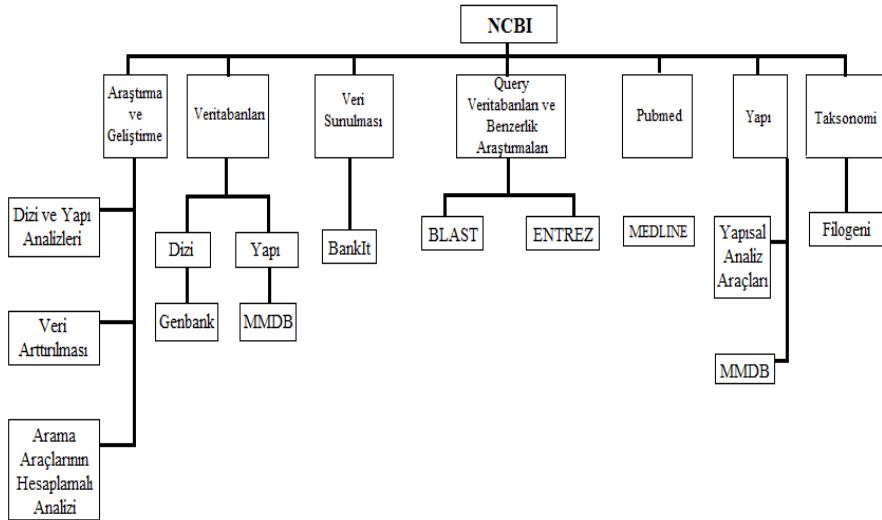
1. **GenBank** (Gen Bankası – ABD/Maryland) [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)
2. **EMBL** (Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı – İngiltere/Hinxton) [www.ebi.ac.uk/embl](http://www.ebi.ac.uk/embl)
3. **DDBJ** (Japonya DNA Veritabanı – Japonya/Mishima) [www.ddbj.nig.ac.jp](http://www.ddbj.nig.ac.jp)

Bu veritabanları araştırmacıların kolaylıkla ulaşabileceği şekilde kullanılabilirliğe açık olup aynı sekanları kullanırlar ancak bu sekanları açıklarken farklı formatlardan yararlanmaktadırlar. Protein dizi verileri ile ilgili başlıca hizmet sağlayanlar ise;

- GenBank
- EMBL
- PIR International (Protein Identification Resource)
- Swiss-Prot'tur.

National Center for Biotechnology Information (NCBI); bu veri tabanı, moleküler biyoloji için ulusal bir kaynak olan ABD'nin en büyük tıp kitaplığı NLM'nin (National Library of Medicine) bir kolu olarak 1988'de Maryland'da kurulmuştur. NCBI, yerel veritabanları, biyoloji araştırmaları, genom veri analizlerinde yazılım araçlarının geliştirilebilmesi, insan sağlığı ve hastalıklarını etkileyen moleküler süreçlerin daha iyi anlaşılabilmesi, verisel bilgilerin yayılması amacıyla çalışmalarına halen devam etmekte ve bu sayede araştırmacılara birçok veri kaynağı sunmaktadır (Kaya vd., 2010; Çelik Altunoğlu vd., 2020). NCBI'nin sunduğu en önemli hizmetlerden biri BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) olarak bilinen aynı ya da farklı organizmalar arasında nükleik asit ya da protein dizi analizlerinin karşılaştırılması veya benzer bölgelerin araştırılmasında kendi içinde barındırdığı algoritmaya göre, veri tabanı içinde sorgulanan dizi hizalama arama motorudur. BLAST, sorgulanan diziyi veri tabanı içindeki diğer dizilerle karşılaştırabildiği gibi kullanıcı tanımlı dizileri ikili olarak da karşılaştırabilmektedir (Kaya vd., 2010; Akgül, 2014). Dizi verileri için en genel format FAST (hızlı) ve Alignment (hizalama)'ın birleşimiyle oluşan FASTA formatıdır. Birçok program dizileri okumak veya sonuçları rapor etmek için

FASTA formatını kullanmaktadır. FASTA formatının temel özelliği hızlı benzerlik araştırmalarında kullanılan ve sadece diziyi içeren bir format olmasıdır. FASTA formatı (>) işareti ile başlar ve daha sonrasında hiç boşluk bırakılmadan bir belirleyici ile tanımlama satırından oluşmaktadır (Kaya vd., 2010). FASTA ve BLAST yöntemleri bütün bir veri tabanında girişi yapılan bir dizi ile uyuaşan dizilerin araştırılmasında yeterince hızlı ve bulgusaldırlar. İstatistiksel anlamda güvenilir olan bu yöntemler genellikle güvenilir alignment'lar sunarak evrimsel yakınlıkların (taksonomi) bulunmasını sağlarlar. Bu veriler kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmaktadır (Luscombe, 2001; Atalay, 2002; Polat ve Karahan, 2009; Kaya vd., 2010).




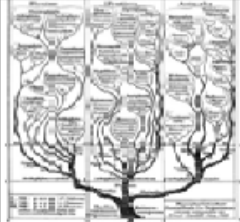
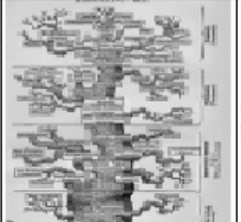
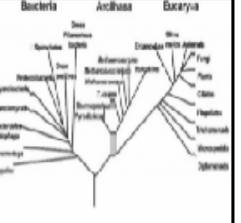
Şekil 1.8. NCBI (Rashidi ve Buehler, 2000; Kaya vd., 2010)

## 1.6. Filogenetik Analiz ve Ağaç Oluşturma

Organizmaların evrimsel tarihi 'filogeni' olarak bilinmesine rağmen, tüm organizma grupları arasındaki genetik bağ ve ilişkileri (evrimsel akrabalığı) araştıran, evrimsel ilişkiyi ata-soy ilişkileri şeklinde ortaya çıkartan bilim dalı ise 'filogenetik' olarak tanımlanmaktadır. Organizmaların sahip olduğu moleküler mekanizmalar, evrimselleşmenin tek bir ortak atadan meydana geldiğini göstermektedir. Moleküler filogenetik alanındaki çalışmalar, DNA ve proteinlerde oluşan değişikliklerin hızını ve karakterini belirler. Bu sayede genler ve taksonlar

köken olarak incelenerek çözümlenmekte ve ortak atadan evrimleşen türler, birbirleriyle ilişkilendirilebilmektedir (Saitou ve İmanishi, 1989; Xiong, 2006; Tez, 2011; Singh, 2015). Saptanan filogenetik ilişkinin, çeşitli akış şemaları ve istatistiksel analizlerle gösterilmesi ve grafiksel olarak özetlendirilmesi ‘filogenetik ağaçlar’ aracılığıyla olur (Saitou ve İmanishi, 1989; Sarıçam ve Müştak, 2015).

Evrimsel ilişkileri görsel olarak ortaya koymak için en uygun araç, filogenetik ağaçlardır. Organizmalar arası evrimsel ilişkileri gösteren bu filogeniler, “evrim ağacı” ya da “yaşam ağacı” olarak adlandırılmaktadır. Yaşam ağacı kavramı, dizileme çalışmaları ile elde edilen bilgilerin özetlendirilerek tek atadan köken almış ve dallanarak farklılaşmış türleri tek bir konsept halinde göstererek anlaşılabilirliği sağlamaktadır. Yaşam ağacı kavramı, ilk kez İngiliz biyolog Charles Darwin tarafından (1809-1882) evrim teorisi kapsamında kullanılmıştır (Şekil 1.9a) (Chapman ve Duval, 1982; Woese vd., 1985). Alman biyolog Ernst Haeckel ise Darwin’in görüşlerini benimsemiş fakat biyogenetik alanının temelini attığı çalışmalarında daha kapsamlı ve ayrıntılı olan bitki, protista ve hayvanları kapsayan yaşam ağacı (1866) ile insan yaşam ağacını (1879) oluşturmuştur (Şekil 1.9b) (Şekil 1.9c) (Haeckel, 1866; Haeckel, 1879). 1970’lerin sonunda ise Carl Woese ve George Fox, prokaryot ve ökaryot ayrımını 16S rRNA analizleriyle ortaya koyarak filogenetik ağacın üç parçalı evrensel halini önermişlerdir (Şekil 1.9d) (Fox vd., 1977a; Fox vd., 1977b; Woese vd., 1985; Sarıçam ve Müştak, 2015).

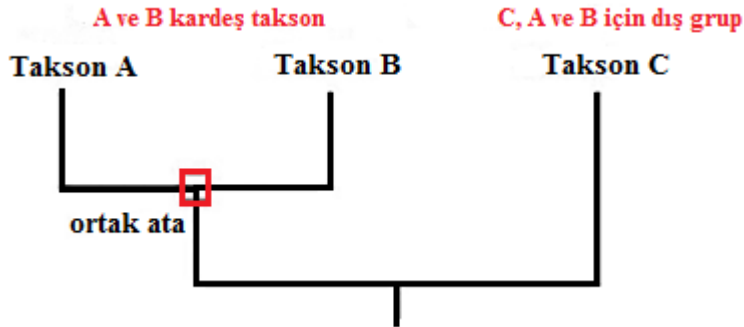
			
<b>a) Charles Darwin'in "Türlerin kökeni (1859)" bölüm IV'de kullandığı yaşam ağacı</b>	<b>b) Ernst Haeckel tarafından ortaya konan "Bitki, protista ve hayvanları kapsayan yaşam ağacı" (1866)</b>	<b>c) Ernst Haeckel tarafından ortaya konan "İnsan yaşam ağacı" (1879)</b>	<b>d) Carl Woese ve George Fox tarafından ortaya konan "Yaşamın filogenetik ağacı" (1970)</b>

Şekil 1.9. Filogenetik ağacın yıllara göre değişimi (Darwin, 1859; Haeckel, 1866; Haeckel, 1879; Woese vd., 1985; Sarıçam ve Müştak, 2015)



### 1.6.1. Filogenetik Ağacın Değerlendirilmesi

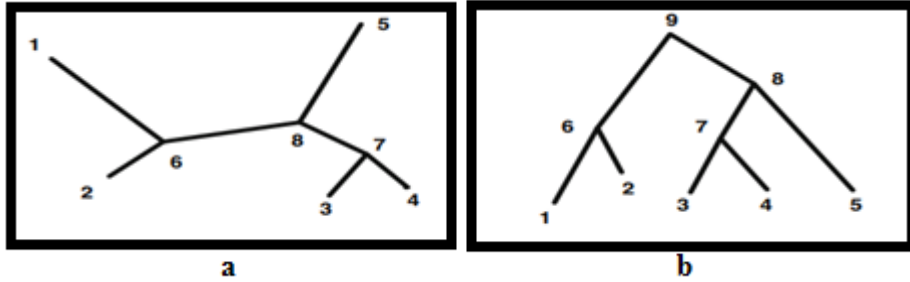
Filogenetik ağaçlarda, taksonlar arası ilişkiler tanımlanır. Takson, alemden türe kadar bir hiyerarşi içinde düzenlenmiş birimlerin her birine denir ve ağaçların dallanma noktalarında bulunur (Singh, 2015). Ortak atadan köken almış birbiriyle yakından ilişkili taksonlara kardeş takson, diğer tüm taksonlardan evrimsel süreçte açık bir biçimde en erken ayrılan taksona ise dış grup denir. Diğer taksonlar, dış grup ile kıyaslandığında birbiri ile daha yakından ilişkilidir. Bu nedenle ağacın köküne yakın bulunmaktadır (Şekil 1.10). Filogenetik ağaçlarda taksonlar; monofiletik, parafiletik ve polifiletik olarak gruplandırılır. Ortak tek bir atadan gelen takson grubuna “klan” ya da “monofiletik” denir ve “tek kökenlilik” olarak da bilinmektedir (Xiong, 2006). Ortak atanın bütün türevlerini içermeyen bazı gruplara ise “parafiletik” grup denmektedir. Polifiletik grup ise birden fazla atadan meydana gelmekte ve “çok kökenlilik” olarak da bilinmektedir (Freeman ve Herron, 1999).



Şekil 1.10. Filogenetik ağaç birimleri (Singh, 2015)

Filogenetik ağaç, başlıca bir düğüm (node) ve dallardan meydana gelmektedir. Her bir dala klad denir ve bu dallardan ayrılan şube kollarına ise branch adı verilmektedir. Dallar, türlerin atasal popülasyonlarının zaman içerisindeki durumlarını gösterirken, dalın uç kısımları ise var olan türü ya da kökeni ifade etmektedir. Birbirine yakın iki dalın birleştiği yere düğüm adı verilir. Düğümler, bir popülasyonun (taksonun) iki veya daha fazla türev popülasyona ayrıldığı noktalara denir ve günümüzde varlığını sürdüren türlerin ortak atasını belirler (Freeman ve Herron, 1999). Filogenetik ağaçta her bir düğüm evrimsel süreçte ayrılan taksonomik bir gruba karşılık gelir (Mount, 2001). Fakat, hangi düğüm ya

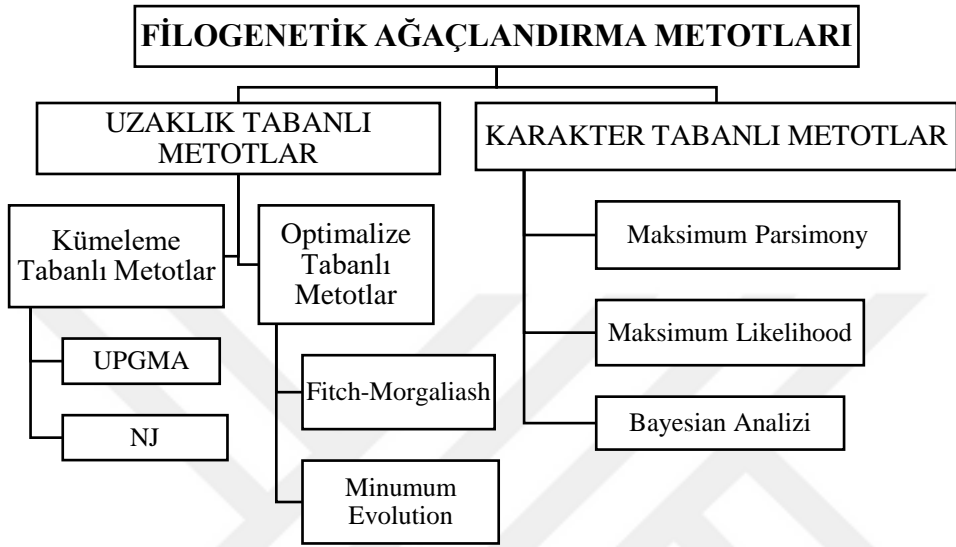
da dalların tarihte önce veya sonra açığa çıktığına işaret etmez (Başibüyük vd., 2000; Tosun, 2015). Ağaçta dış dallar taksonları, iç dallar ve düğümler ise taksonlar arası ilişkiyi yansıtmaktadır. Filogenetik ağaçta birbiri ile yakın ilişkili türler birbirine komşu dallarda yer alırlar. Ağaç dallarının paterni topoloji olarak adlandırılır ve dal uzunluğu genellikle dalda oluşmuş değişikliklerin (basamakların) sayısını belirler (Mount, 2001; Tez, 2011). Ağaçtaki öncülü olmayan düğüm köktür. Filogenetik ağaçlar köklü (rooted) veya köksüz (unrooted) olabilmektedir. Kök ortak bir atayı temsil eder ve ağacın herhangi bir yerinde yer alabilir (Şekil 1.11a). Köksüz ağaçta, her bir taksonun diğeriyle ilişkisi görülmektedir ancak ortak ata tahmin edilemediğinden dolayı evrimsel yönü yoktur (Şekil 1.11b). Köklü ağaçlarda ise taksonlar, ortak bir atadan köken olarak inceleme altındaki soy hattının nereden köklendiğini tanımlayarak ayrılma olaylarının açığa çıkma sırasını ortaya koymakta ve evrimsel ilişkiyi belirlemede kullanılmaktadır. Bundan dolayı köklü ağaç, köksüz filogenetik ağaçlara oranla evrimsel yönü daha da gelişmiş olup yüksek bilgi içeriğine sahiptir (Xiong, 2006; Sarıçam ve Müştak, 2015).



Şekil 1.11. a) Köksüz filogenetik ağaç, b) Köklü filogenetik ağaç (Singh, 2015)

### 1.6.1.2. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metotları

Filogenetik ağaçlandırma metotları, dayandıkları esaslara göre “uzaklık/mesafe tabanlı” ve “karakter tabanlı” olmak üzere ikiye ayrılırlar. Mesafe tabanlı metotlar, taksonlar arasındaki mesafeye göre kümelenirilerek yerleşim göstermesi ya da oluşturulan birden fazla ağaçtan optimal olanının seçilmesine göre kendi içerisinde iki alt başlık halinde gruplandırılan metotlarken; karakter tabanlı metotlar tek başlık altında toplanmaktadır (Sarıçam ve Müştak, 2015). Filogenetik ağaçlandırma metotları Şekil 1.12’de ve aşağıdaki alt başlıklarda ayrıntılı olarak verilmektedir.



Şekil 1.12. Filogenetik ağaç oluşturma metotları (Sarıçam ve Müştak, 2015)

#### 1.6.1.2.1. Uzaklık Tabanlı Metotlar

Genetik uzaklık yöntemi, tüm taksonlar arasındaki uzaklıkların dikkate alınarak oluşturulduğu filogenetik ağaçlardır. Bu yöntemde kullanılan algoritmalar, kümeleme temelli veya en iyi durum (optimum durum) temelli algoritmalar olarak ikiye ayrılmaktadır. Filogenetik ağacı oluşturmak için dizi grubunda her bir çift arasındaki değişikliklerin sayısı temel alınır. Birbirlerine genetik uzaklığı en az olan türler birleştirilerek, hizalanan diziler arasındaki farklılıkların miktarına göre ağaç oluşturulur. Ağacın dalları boyunca ortaya çıkan değişikliklerin sayısı, diziler arasındaki uzaklığı gösterir (Mount, 2001). Tercih edilen ağaç, taksonlar arasındaki mesafeyi en aza indirgeyen ağaçtır. Ayrıca uzaklık tabanlı metotlar diğer yöntemlerden daha kolay ve hızlıdır (Freeman ve Herron, 1999). Bu metotta ayrıca çok sayıda dizi kullanılmaktadır (Sarıçam ve Müştak, 2015).

##### 1.6.1.2.1.1. Kümeleme Tabanlı Metotlar

Kümelenme temelli algoritmalar, birbirine en benzer dizi çiftlerinden başlayan mesafe matrisini temel alarak filogenetik ağacı hesaplar (Xiong, 2006). Bu algoritmalar, açılımı aritmetik ortalamayı kullanarak ağırlıklı olmayan çift grup yöntemi olan UPGMA yöntemini ya da komşu birleştirme yöntemini (NJ) içermektedir (Sarıçam ve Müştak, 2015).

#### **1.6.1.2.1.1.1. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)**

“Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Grup Metodu” olarak da adlandırılan UPGMA metodu; köklü ağaçlar oluşturan ultrametrik (kökten tüm uçlara eşit uzunlukta dalları olan) bir ağaçlandırma metodudur. Verileri uzaklık bakımından algoritmik olarak düzenleyerek taksonları kümeleyen bu metot, kümelemenin en basit ve en hızlı metodudur (Xiong, 2006). Bu yöntemde kullanılan temel varsayım öncelikle en yakın iki taksonun gruplandırılmasından başlar daha sonra artan uzaklık dikkate alınarak, tüm taksonlar gruplandırılır. Kademeli olarak uzaklık arttıkça taksonlar, yeni gruplara girmeye ve birbirinden farklılaşmaya başlar (Morrison, 1996; Sarıçam ve Müştak, 2015).

#### **1.6.1.2.1.1.2. Neighbor-Joining (NJ)**

“Komşu Birleştirme Metodu” olarak da bilinen bu metot, 1987’de Saitou ve Nei tarafından ileri sürülmüştür (Saitou ve Nei, 1987). Bu metot filogenetik ağacı oluşturmak için birbirine en yakın mesafede ki türleri kullanır. Kümelene temelli algoritmalar ile aynı olmasına karşın bunlardan farklı olarak türlerin ultrametrik (kökten eşit uzaklıkta) olduğu varsayımını temel almaz (Xiong, 2006; Sarıçam ve Müştak, 2015).

#### **1.6.1.2.1.2. Optimalite Tabanlı Metotlar**

Özellikle geniş veri setleri kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlandırma metotlarındandır. Bu nedenle daha kapsamlı ve yavaş hesaplama ile ayrıntılı araştırma gerektiren durumlarda tercih edilirler. Fitch-Margoliash ve Minimum Evolution olmak üzere iki temel metottan oluşur (Sarıçam ve Müştak, 2015).

##### **1.6.1.2.1.2.1. Fitch-Margoliash (FM)**

Eşit evrimleşme hızı varsayımını göz ardı ederek genetik uzaklıklarla oluşturan filogenetik ağaçlandırma yöntemidir (Fitch ve Margoliash, 1967; Keskin, 2019). Orijinal veri kümesi içerisindeki uzaklıkları ve ağacın tüm dal uzaklıklarının minimum sapmaya dayanarak orantılayan ve en muhtemel ağaç oluşumunu hedefleyen bir algoritmaya sahiptir. Herhangi iki taksonun rastgele bir düğüm noktasında kümelendirilmesiyle uzaklıkları tanımlamak adına eşitlikler oluşturulur ve bu sayede kümelenen taksonlarda yeni bir matriks meydana gelir, bu işlem ağaç

tamamlanincaya dek devam eder. Bu yöntem, tüm ağaç topolojilerini araştırarak gerçek uzaklıklardan en küçük sapmayla dahi dal uzunluklarını hesaplayabilen bir metottur (Sarıçam ve Müştak, 2015).

#### **1.6.1.2.1.2.2. Minimum Evolution (ME)**

Minimum Evolution metodu, Fitch-Margoliash metoduna benzer bir prosedür ile ağaç oluşturur fakat muhtemel ağaçlar arasından en uygun olanı seçerken farklı bir optimalite kriteri olarak dal uzunluğunu bulma hususunda cebirsel eşitlik kullanmaktadır (Sarıçam ve Müştak, 2015). Uzun bir DNA ya da amino asit dizisinin kullanıldığı durumlarda Minimum Evolution metodu kullanılırken, kullanılan nükleotit veya amino asit sayısının az olduğu durumlarda ise Neighbour Joining metodunun kullanımı tercih edilmektedir (Nei vd., 1998; Keskin, 2019).

#### **1.6.1.2.2. Karakter Tabanlı Metotlar**

Karakter tabanlı metotlar, taksonlardaki farklı karakterlerin varlığı esasına dayanmaktadır. Bu karakterler her bir taksondaki canlıya ait olan moleküler dizilerdir ve dizilerde biriken mutasyonların sayılması esas alınır (Tez, 2011; Sarıçam ve Müştak, 2015). Karakter tabanlı metotlar, daha karmaşık olduğu için daha fazla emek ve zaman isteyen metotlardır (Keskin, 2019). Bu metotta kullanılan algoritmalar Maksimum parsimoni (MP), Maksimum likelihood (ML) ve Bayesian analizidir (Sarıçam ve Müştak, 2015).

##### **1.6.1.2.2.1. Maksimum Parsimony (MP)**

Parsimoni kelime anlamı olarak; tutumluluk, güvenilirlik, olabilirlik şeklinde tanımlanmaktadır. Maksimum Parsimony metodu ise, en eski, en basit ve en sık kullanılan metotlardandır. Bu metotta, incelenen diziler ya da genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gereken en az mutasyonların belirlenmesi esastır. Başka bir deyişle, biyolojik değişim süreci boyunca karmaşıklık yerine basit bir açıklama yaparak verilerin yorumlanması esas alınır (Freeman ve Herron, 1999). Bir DNA veya amino asit dizisinin evrimsel değişimini açıklayabilmek için gereken en az sayıda mutasyon değişiklik sayısı her topoloji için hesaplanarak bulunmaktadır. Hesaplama kolaylığından dolayı istatistiksel özellikler kapsamlı bir şekilde incelenebilmektedir (Saitou ve İmanishi, 1989; Keskin, 2019). Bu yöntem türler arasındaki farklılığı en iyi şekilde ifade etmektedir fakat çok zaman

alıcısıdır ve çok sayıda örnek ele alındığında kullanıma uygun değildir (Freeman ve Herron,1999; Tosun, 2015).

Maksimum Parsimony metodu ile ağaçların oluşturulmasında ‘kesin’ ve ‘tahmini’ yaklaşımlar söz konusudur. Bu metot ile oluşturulan ağaçlarda kesin yaklaşımlar, dizi sayısı az olduğu durumlarda kullanılmakta ve tüm ağaçları incelemektedir. Tahmini yaklaşımlarda ise çok sayıda dizi varlığında kullanılarak olası tüm ağaçlar gözden geçirilerek en uygun ağaç belirlenebilmektedir. (Freeman ve Herron, 1999). En iyi ağaç olarak en küçük mutasyon değişiklik sayısını gösteren topoloji seçilmektedir (Saitou ve İmanishi,1989, Nei vd., 1998; Sarıçam ve Müştak, 2015; Keskin, 2019).

#### **1.6.1.2.2.2. Maksimum Likelihood (ML)**

Joseph Felsenstein tarafından 1981 yılında MP’ye alternatif olarak ortaya konulmuş bir metottur (Felsenstein, 1987). Araştırmacıya sunulan bütün bilginin daha etkili kullanımı ve olası birçok ağaç içerisinde en iyi ağacı seçme hususunda istatistiksel testler kullanma olanağı açısından ortaya çıkartılmış bir yöntemdir. Ayrıca bu yöntemde her olası ağaç topolojisi değerlendirilmekte ve dizi hizalamasında yalnızca bilgi verici bölgelerin değil her pozisyonun hesaba katılması esas alınmaktadır (Sarıçam ve Müştak, 2015). Yöntem, çok iyi temellendirilmiş istatistiğe dayandığından matematiksel olarak da zahmetlidir bu sebeple taksonların sayısı belirli bir seviyeyi aştığında bu yöntemin kullanılması zor bir hal almaktadır. Bu sorunu ortadan kaldırmak adına Quartet puzzling, genetik algoritmalar ve Bayes yöntemi gibi bazı farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir (Tez, 2011).

#### **1.6.1.2.2.3. Bayes Metodu**

Bu metot, filogenetiğin en popüler metodudur. Temel olarak Maximum Likelihood metoduna benzemektedir ancak Maximum Likelihood yönteminden, daha hızlı ve daha geniş çapta veri kümelerini kullanabilirliği ve özellikle olasılık teoremi prensibi dolayısıyla ayrılmaktadır. Bu teorem mevcut gözlemlere dayanarak gözlenmeyen bir durum hakkında sonuç çıkarma prensibine dayanır (Tez, 2011). Ayrıca teorem, rastgele bir değişken için olasılık dağılımı içinde koşullu olasılıklar ile arasındaki ilişkiyi göstermektedir (Freeman ve Herron, 1999; Sarıçam ve Müştak, 2015).

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Üzerinde çalıştığımız Apiaceae familyası ve *Carum* cinsine ait bitkiler ile ilgili olarak daha önce yapılmış olan filogenetik, sistematik, etnobotanik, taksonomik ve teropotik alandaki çalışmalar kronolojik sıra ve önemine göre aşağıda yer almaktadır.

Apiaceae taksonlarının doğal kumarinler için iyi birer kaynak olduğu bilinmektedir (Doganca vd., 1979). Kumarinler, uçucu yağlar ve seskiterpenler gibi yararlı sekonder metabolitleri içermeleri nedeniyle familya üyeleri sıklıkla baharat ve ilaç olarak kullanılırlar (Heywood, 1971; Lee ve Rasmussen, 2000). Asya ülkelerinde kullanılan doğal ilaçların birçoğu Apiaceae üyelerinden elde edilen özütlerden oluşmaktadır. Örneğin *Angelica* L. türlerinin (*Angelica gigas* Nakai., *Angelica acutiloba* (Siebold & Zucc.) Kitagawa., *Angelica dahurica* Maxim., *Angelica decursiva* (Miq.) Franch. & Savat.) kurutulmuş kökleri Kore, Japonya ve Çin'de ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerden gastrointestinal rahatsızlıkların, baş ağrılarının, deri hastalıklarının tedavisinde ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde yararlanılmaktadır. Ayrıca Uzak Doğu'da geleneksel tıp bitkilerinden olan *Peucedanum japonicum* Thunb. türü diüretik, laksatif ve sedatif olarak kullanılırken, *Bupleurum falcatum* L. türü ise diare, amenore ve humma gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Lee ve Rasmussen, 2000).

Apiaceae Lindl. (Umbelliferae Juss.) familyası dünya genelinde çöller, bataklıklar, orman altı ve açıklıkları, subalpin tundralar, stepler ve açık yerler gibi çok çeşitli habitatlarda yayılış gösteren kozmopolit bir familyadır (Pimenov ve Leonov, 1993; Berenbaum, 2001). Bu familya üyelerinin çoğu şemsiye biçimindeki çiçek durumu, bir karpofora asılı duran tek tohumlu iki karpelden (merikarp) oluşan özelleşmiş meyveleri ve çok sayıda küçük epigin çiçekleri ile kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Downie vd., 1998). Ayrıca familya n=4-12 (genellikle 11 ya da 8) arasında sıralanan temel kromozom sayısı ile karakteristiktir (Plunkett vd., 1996).

Katz-Downie vd., (1999), Apiaceae familyasının en büyük ve en iyi bilinen altfamilyası olan Apioideae'nin 116 temsilcisi (80 cins) ile arasındaki evrimsel ilişkileri ve filogenetik yerleşimleri netleştirmek için 18S-26S nükleer rDNA

tekrarının (ITS 1 ve ITS 2) iki transkripsiyonlu aralayıcı bölgesini moleküler markörler kullanarak analizini sağlamışlardır. Maksimum Parsimony ve Neighbor-Joining yöntemleri kullanılarak elde edilen filogenetik veriler neticesinde, filogenetik yerleşimleri tartışmalı olan birkaç jenerasyonun ilişkilerini fitokimyasal karakterler (kumarin, flavonoid ve fenilpropan) ile morfolojik karakterler (stomatlar, polen ve kotiledoner) ile karşılaştırarak netleştirmişlerdir. Morfolojik olarak polen ve kotiledon karakterlerinin Apioideae altfamilyası için yüksek düzeydeki filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında tek başına bilgilendirici olmadığını ancak meyve, çiçek durumu ve vejetatif morfoloji gibi diğer karakterlerle birlikte kullanıldığı zaman moleküler verilerin kladistik analiziyle desteklenebilen bazı evrimsel yönelimlerini ortaya çıkarmada kullanışlı olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca Apioideae'nin bu karakterlere dayanan sınıflandırma sistemi dağılımlarının homoplastik olduğunun tespitini sağlayarak elde ettikleri filogenetik ağaçlarda *Carum carvi* L., *Fuernrohria setifolia* C. Koch., *Falcaria vulgaris* Bernh., *Olymposciadum caespitosum* (SM) Wolf. ve *Aegopodium alpestre* Ledeb. türlerinin bir klad içerisinde konumlanarak yüksek bootstrap değerleri ile filogenetik benzerliği ortaya çıkartılmış ve tüm bu kriterlere dayandırılarak sınıflandırılmış Apioideae'de yer alan türleri moleküler ve filogenetik açıdan geniş ölçüde araştırmışlardır.

Iacobellis vd., (2005), *Cuminum cyminum* L. ve *Carum carvi* L.'nin meyvelerinden hidrodistilasyon ile ekstrakte ettikleri uçucu yağları, gaz kromatografisi (GC) ve GC-kütle spektrometrisi (MS) ile analiz ederek, uçucu yağların ana bileşenlerini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada agar difüzyon yöntemi ile belirlenen antibakteriyel aktivite, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerine karşı gözlenmiştir. Çalışmada dünya çapında bitki veya ekili mantar hastalıklarından sorumlu olan *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Ralstonia* ve *Agrobacterium* cinsine ait bakterilerine karşı yüksek aktivite gösterirken, *Pseudomonas* cinsine ait bakterilere karşı daha düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, analiz edilen uçucu yağların insan ve hayvan hastalıklarından sorumlu mikroorganizmalar, gıda bozulmasından sorumlu olanlar ve fitopatojenik bakteri ve mantarlar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini doğrulamıştır. Ayrıca *C. cyminum* ve *C. carvi* L. esansiyel yağlarının, *Aspergillus parasiticus* ile mayaların ve Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin büyümesini inhibe ettiği bunun sonucunda analiz edilen uçucu yağların bakteriyel hastalıkların kontrolü için potansiyel kullanımını destekler niteliktedir.



Papini vd., (2007), Apiaceae familyasının alt familyası olan Apioideae ile evrimsel ilişkilerin belirlenmesi için, İtalya'da bilinen dört *Carum* L. (Apiaceae) türünün filogenetik pozisyonunu oluşturmak için nükleer rDNA'nın ITS bölgesini moleküler markörler kullanılarak analiz etmişlerdir. Yapılan bootstrap analizi, Maksimum Parsimony, Bayes ve Maximum Likelihood metodu ile oluşturulan ağaçların polifiletik olduğu ve bu cinsin üç farklı klad oluşturduğu gözlenmiştir: *Carum carvi* L., *Careae* Baill kabilesi içinde kümelenmiş; *Carum heldreichii* Boiss. ve *Carum appuanum* (Viv.) Grande ise Pyramidoptereae Boiss kabilesi içinde kümelenerek *C. multiflorum* (Sibth. & Sm.) Boiss. ile *C. heldreichii* Boiss.'in iyi desteklenen monofiletik grup oluşturduğu gözlemlenmiştir. Aynı kabiledede yer alan *Carum appuanum*'un taksonomik pozisyonun, diğer tüm *Carum* türlerinden ayrılarak *Scaligeria moreana* Engstrand türü ile monofiletik grup oluşturduğu fakat bu iki türün morfolojik benzerliğinin çok az olduğu için daha ileri analizlerle, bu tür için yeni bir taksonomik pozisyon önermenin gerekli olup revizyona ihtiyaç olduğu tespit edilmiştir.

Kuraklık, mahsul verimliliğini sınırlayan abiyotik bir faktördür (Wang vd., 2003). Birçok mahsulün yağ asidi kompozisyonunu etkileyerek, uçucu yağ veriminde ve aromatik bitkilerin kompozisyonunda değişikliklere neden olmaktadır (Hamrouni vd., 2001; Boschini vd., 2008; Bettaieb vd., 2009). Apiaceae ailesinin bir üyesi olan *Carum carvi* L. aromatik bir bitkidir. Bu türün su ihtiyacı 11.500 ve 12.500 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> arasında değişmektedir (Abdelgawad, 2006). Laribi vd., (2009), sulamanın, tıbbi ve aromatik bitkilerin büyümesini ve verimini etkileyen çok önemli bir faktör olduğunu analiz etmişlerdir. Araştırmada beş sulama seviyesinin *Carum carvi* L. tohumlarının büyüme, verim ve kimyasal bileşimi üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışma sonuçları vejetatif büyüme parametrelerinin, düşük seviyelere kıyasla daha yüksek sulama seviyelerinin uygulanmasının bir sonucu olarak geliştiğini göstermiştir. Sulama seviyelerini azaltarak, sulama suyu kullanım etkinliği artırılmıştır. GC analizi sonuçlarına göre, sulama işlemlerinin yağ bileşimini (linalool, *p*-Cymene, limonene, nerol) etkilemediği ancak *Carum carvi* L.'nin kimyasal analizleri bitkinin azot, fosfor ve karbon yüzdelere kademeli olarak azalttığını göstermiştir. Sonuç olarak bu çalışma, lipitler ve toplam yağ asitleri gibi primer metabolitleri azalttığı ancak sekonder metabolitleri (uçucu yağlar, fenoller, vb.) arttırdığının tespitini sağlamıştır.

Şanlı vd., (2010), *Carum carvi* L. (kimyon) tohumu muamelelerinin (öğütülmüş (G) ve tam tohum (W)) ve dozlarının (50 g, 100 g, 150 g), *Solanum tuberosum* L. (patates)'in filizlenme, filiz uzunluğu, patates yumru başına filiz sayısı ve patates yumrularının kilo kaybı üzerindeki etkilerini iki farklı sıcaklıkta (8°C ve 15°C) araştırmışlardır. Klorpropham [CIPC; izopropil N- (3-klorofenilkarbamat)] veya CIPC / propham (IPC; izopropil N-fenilkarbamat) karışımları, birçok farklı ülkede yumru köklerin filizlenmesini önlemek için yaygın olarak kullanılan kimyasal bir üründür fakat yumrular üzerinde kirletici maddeler bırakması ve kullanımının küçük ölçekli yetiştiriciler için uygun olmamasından dolayı çalışmada, alternatif bir kaynak olan karvon değerlendirilmiştir (Hartsmans vd., 1995; Kerstholt vd., 1997; Baydar ve Karadoan, 1999). Karvon, kimyon tohumlarından elde edilen organik bir bileşiktir (Hartsmans vd., 1995). Kolay erişilebilirliği ve daha ucuz olması sebebiyle patates yumrularının filizlenmesini önlemek için iki farklı sıcaklıkta incelenmiş ve yapılan deneyler sonucunda öğütülmüş tohum muameleleri ile 8°C ve 15°C'de uygulanan filizlenme üzerine etkilerinde istatistiksel olarak önemli azalmalar gözlenmiştir.

*Carum* L., Apiaceae familyasına ait bazı üyeler gibi, tür bileşimi tartışmalı olan bir cins olup bu familyaya ait birçok türün cinse yerleşimi eleştirilmektedir (Zakharova, 2010). *Carum* türleriyle ilgili moleküler veriler oldukça yetersiz olduğundan Zakharova (2010), yaptığı bu çalışma neticesinde taksonomik öneme sahip olduğu söylenen morfolojik ve anatomik karakterlerin, türler arasındaki ilişkilerini aydınlatmak için dünyanın farklı bölgelerinden 13 *Carum* türünü inceleyerek (*Carum buriaticum* Turcz., *Carum caucasicum* (M. Bieb.) Boiss., *Carum diversifolium* (DC.) C. B. Clarke, *Carum grossheimii* Schischk., *Carum heldreichii* Boiss., *Carum komarovii* Karjag., *Carum meifolium* (M. Bieb.) Boiss., *Carum porphyrocoleon* (Freyn & Sint.) Woronow ex Schischk., *Carum polyphyllum* Boiss. & Blanche ex Boiss., *Carum rigidulum* (Viv.) Koch ex DC., *Carum rupicola* Hartvig & Strid, *Carum verticillatum* (L.) Koch ve *Trachyspermum roxburghianum* (DC.) H. Wolff) bu türleri *Carum*'un monospesifik olarak tanımlanandığı *Carum carvi* L. ile karşılaştırmıştır. Yapılan bu çalışmaya göre gözlenen veriler ise şöyledir: *Carum porphyrocoleon*, *C. carvi* ile en yakından ilişkili türdür; *Carum diversifolium* (DC.) C. B. Clarke ile *Trachyspermum roxburghianum* (DC.) H. Wolff; *Carum polyphyllum* ile *C. carvi* ve *C. komarovii* ile *Pimpinella anthriscoides* Boiss.'in morfolojik ve anatomik karakterlerin karşılaştırmalı analizi sonucu büyük benzerlikler gösterdiği

belirlenmiştir. *C. caucasicum*, *C. grossheimii* ve *C. meifolium*'un ise anatomik ve morfolojik olarak önemli farklılıklar gösterirken, *C. rupicola*, *C. buriaticum*, *C. heldreichii* ve *C. rigidulum* yaşam formları, brakte ve brakteol varlığı ve meyve yapısı ile *C. carvi*'den ayrıldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak 8 *Carum* türünün nükleer ribozomal DNA'nın ITS dizilerinin moleküler ve filogenetik analizine dayanarak, ilgili türlerin beş farklı klat arasında dağıldığını ve yakından ilişkili olmadığını göstermiştir. Aynı zamanda bu çalışma, Apiaceae familyasına ait geleneksel bir tür olan *Carum*'un morfolojik değişkenliğinin bir kanıtını teşkil etmektedir.

*Carum carvi* L., Apiaceae familyasına ait gıda ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan popüler bir bitkidir. Ayrıca uçucu yağ bakımından da oldukça zengindir. Uçucu yağlar, gıda ve parfümeri endüstrisinde, tıbbi alanlarda ve çeşitli pek çok alanda kullanılmaktadır (Laribi vd., 2009; Bradley, 2006; Raal vd., 2012). *Carum carvi* L. tohumlarındaki yağların ana bileşenlerini karvon (%44.5-95.9) ve limonen (%1.5-51.3) oluşturmaktadır. Karvon biyolojik olarak aktif, tohumların çimlenmesini engelleyen, bazı mantar ve mikropların büyümesini destekleyen, insektisit özellik gösteren doğal bir kimyasaldır (Toxopeus vd., 1992; Khan ve Sastry, 2009). Limonen ise daha yüksek değerli oksijenli türevler elde etmek için indüklenen mikrobiyal biyodönüşüm reaksiyonlarında çekici bir baz malzemesi olarak kullanılmaktadır (Ferrara vd., 2009). Raal vd., (2012) yaptığı çalışmada, farklı ülkelerden elde ettikleri yirmi ticari *Carum carvi* L. örneğindeki uçucu yağ içeriği ve bileşimindeki farklılıkları, hidrodistillasyon ve kılcal gaz kromatografisi (GC analizi) teknikleri kullanarak belirlemiş ve karvon ile limonen içeriği arasında negatif korelasyonu  $-0.999$  ( $p < 0.01$ ) bulmuşlardır. Ek olarak kimyon esansiyel yağlarında,  $\beta$ -mirsen (%0-0.4), *trans*-dihidrokarvon (%0-0.5) ve *trans*-karveol (%0-0.2) ayrıca  $\alpha$ -pinen, sabinen,  $n$ -oktanal, *trans*- $\beta$ -ocimene,  $\gamma$ -terpinene, linalool, *cis*-ve *trans*-limonen oxide, *cis*-dihidrokarvon, *cis*-carveol, perillaldehide, *trans*-anetol ve *trans*- $\beta$ -karyofillen bulunmuştur. Buna bağlı olarak uçucu yağ veriminin %0.6 ile %5.4 arasında değişim gösterdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak farklı ülkelerden elde edilen *Carum carvi* L. ticari meyvelerinde bulunan uçucu yağın içeriği ve bileşiminin dikkate değer ölçüde değişken olduğu, karvon ve karvon-limonen kemotiplerinin bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca, incelenen ticari kimyon örnekleri arasında sadece dört örneğin Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun olduğunun tespiti sağlanmıştır.

Zakharova vd., (2012) Apiaceae familyasının alt familyası olan Apioideae ile evrimsel ilişkilerin belirlenmesi ve *Carum* L. (Apiaceae) türlerinin sistematik yerleşiminin anatomik ve morfolojik verilerle karşılaştırılarak filogenetik pozisyonunu oluşturmak için nükleer rDNA'nın ITS bölgesini moleküler markörler kullanılarak analiz etmişlerdir. Tür bileşiminin tartışmalı olduğu *Carum* türlerine ait evrimsel hatlar yapılan Maximum Parsimoni ve Maximum Likelihood metodu ile oluşturulan ağaçlar ile açıklanmaya çalışılmıştır. Filogenetik analizler sonucu oluşturulan dendogramlar yedi büyük klada ayrılmış fakat *Carum* türleri beş klada dağılarak genel sınırları ve yerleşimleri tanımlanmıştır. Avrupa ve Doğu Asya'da yayılış gösteren; *C. holdreichii* Boiss., *C. appuanum* (Viv.) Grande, *C. verticillatum* (L.) WDJ Koch ve *C. diversifolium* (DC.) CB Clarke türlerinin morfolojik açıdan *Carum* L. ile benzerlik göstermediği aynı zamanda *C. diversifolium* (DC.) CB Clarke türünün Apiacea familyasına ait *Trachyspermum* cinsinin bir üyesi olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca konuyla ilgili bilimsel literatür kayıtları da gözden geçirilerek, *Carum*'un polifirik olduğu (Downie vd., 2010) ancak bu örneklemin cinsin birkaç türünü kapsadığı kıstası göz önüne alınarak, *Carum meifolium* (M. Bieb.) Boiss., *Carum caucasicum* (M. Bieb.) Boiss., ve *Carum carvi* L. türleri *Careae* Baill. kabilesi içerisinde, *Carum rupicola* Hartvig & Strid.ise *Pyramidoptereae* Boiss. içerisinde kümelenecek genel sınırları ve yerleşimleri doğrulanmıştır. Sonuç olarak, Apiaceae sistematğinde önemli olan morfolojik karakterlerden merikarp kesitleri, taç yapraklar ve yaprak salgı kanalları sayısı yapılan çalışma ile incelenerek türler arasında farklılıkların meydana geldiği bu farklılaşmanın türlerin yerleşim yerlerini de etkileyerek *Carum* cinsinin genel sınırlarını belirlemek adına Apiaceae familyasında yer alan diğer cinsler ile yapılan çalışmalarla karşılaştırılarak klad ve cinsler arasındaki ilişki değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu cinsin evriminin daha iyi anlaşılması ve türler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için daha fazla çalışma gerekliliğinin tespitini sağlamışlardır.

Bulut vd., (2014), Türk Apiaceae türleri üzerinde etnofarmakolojik bir inceleme yapmışlardır. Türkiye'de geleneksel terapide kullanılan birçok popüler bitkinin bulunduğu en önemli ailelerden biri olan Apiaceae, Türkiye florasının en zengin ailelerinden biridir. Dünyadaki genel nüfusun yaklaşık %80'i çeşitli hastalıkları tedavi etmek için bitkileri bir ilaç kaynağı olarak kullanmaktadır. Çalışma ağırlıklı olarak yerel etnobotanik araştırmalara dayalı olarak yapılmıştır. Etnofarmakolojik bilgiler, yerel halktan açık ve yarı yapılandırılmış görüşmeler yoluyla elde

edilmiştir. Halk tıbbi bitkilerinin örnekleri saha çalışmaları sırasında toplanmış ve daha sonra tanımlanmıştır. Ayrıca konuyla ilgili bilimsel literatür kayıtları da gözden geçirilerek, Türkiye'de tedavide içinde *Carum carvi* L. nin de içerisinde bulunduğu 70 Apiaceae türü incelenmiştir ve listelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre bitkilerin çoğunlukla sindirim sistemi hastalıkları, hemoroid, diyabet için ve afrodisyak ve yatıştırıcı olarak etkili olduğu tespit edilmiştir.

Zakharova vd., (2014), üç Apiaceae taksonu olan *Carum piovanii* Chiov., *Bunium nothum* (C.B. Clarke) P.K. Mukh. ve *Bunium kandaharicum* Rech.f. 'un sistematik konumu, morfolojik ve anatomik çalışmalarla birlikte mevcut nrITS sekans verilerine göre moleküler markörler kullanarak analiz etmişlerdir. Yapılan bu çalışma ile taksonomik geçmişi oldukça karmaşık olan Apiaceae familyasına ait üç türün sistematik konumu netleştirmişlerdir. ITS dizi verileri matrisi ile Maksimum Parsimony (MP) ve Bayes metodu kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlar, Posterior olasılıkları ve bootstrap ile desteklenerek yapılan bu moleküler çalışmayı güçlendirmişlerdir. Morfolojik, anatomik ve filogenetik veriler neticesinde *C. piovanii*, yer altı organları, yaprakçıkların boyutu ve petal rengi gibi karpolojik benzerlikleri sebebiyle *Carum* türlerinden farklı olan *Afrikan peucedanoid* cinsi *Afroligusticum*'un içerisine konumlandığı sonucuna ulaşmışlar ve bu verilere dayanarak *Afroligusticum piovanii*'nin yeni isimlendirme kombinasyonunu önermişlerdir. Ayrıca çalışmada *Bunium nothum* ve *Bunium kandaharicum*'un, *Bunium* cinsine ait türler olduğu; *Bunium kandaharicum*'ın Apiaceae familyasına ait *Elwendia stewartiana* (Nasir) Pimenov & Kljuykov türünün sinonimi olduğunu tespit etmişlerdir.

Lyskov vd., (2017), *Rhabdosciadium* (Apiaceae) cinsine ait altı türü, taksonomik açıdan karşılaştırmalı olarak değerlendirmiş ve mevcut nrITS sekans verilerine göre moleküler markörler kullanarak analiz etmişlerdir. *Rhabdosciadium* cinsi endemik olup Türkiyede yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Türkiyede yeni keşfedilen bu türün meyvelerine ait tanısal özellikleri (Hedge ve Lamond, 1972; Hedge ve Lamond, 1987; Duran vd., 2010; Akalın ve Akpulat, 2012) *Rhabdosciadium*'un bilinen tüm türleri ile *Aegopodium* L., *Carum* L., *Falcaria* Fabricius, *Fuernrohria* Karl Koch, *Grammosciadium* s.s., *Hladnikia* Wilhelm Koch, *Gongylosciadium* Rechinger, *Hladnikia* Wilhelm Koch. ve *Olymposciadium* Hermann Wolff türlerinin filogenetik açıdan değerlendirilmesi sonucunda netleştirilmiştir. Sonuç olarak, *Rhabdosciadium* türünün diğer türler gibi *Careae*

kabilesi içinde kendi cinsine ait türlerle kümelenerak *Rhabdosciadium*'un yeni bir tür olduğunu yaptıkları çalışma ile kanıtlamışlardır.

Ngahang Kamte vd., (2018), Protozoal enfeksiyonlarla mücadelede, uçucu yağların yeni terapötik seçeneklerin temsil edilebilirliğini araştırmışlardır. Apiaceae, sahip olduğu salgı yapıları nedeniyle uçucu yağların zengin kaynaklarından. Yürütülen bu çalışmada dokuz Apiaceae türünün (*Siler montanum* Crantz, *Sison amomum* L., *Echinophora spinosa* L., *Kundmannia sicula* (L.) DC., *Crithmum maritimum* L., *Helosciadium nodiflorum* (L.) W.D.J.Koch, *Pimpinella anisum* L., *Heracleum sphondylium* (Eltrot) ve *Trachyspermum ammi* L.) ve bunların uçucu yağlarının, HAT (Human African trypanosomiasis/ insan Afrika tripanozomiyazı) tedavisinde alternatif-bütünleştirici terapiler ve ilaç tasarımı olarak kullanılacak tripanosidal bileşiklerin tanımlanması ve değerlendirilmesi sağlanmıştır. HAT, Afrika uyku hastalığı olarak da bilinen ana vektör olarak çeçe sinekleri (*Glossina* spp., Diptera: Glossinidae) ile enfekte olan ve enfeksiyonun türüne ve hastalığın evresine bağlı olarak hastaları birkaç aydan yıla kadar öldürebilen ciddi bir hastalıktır. HAT tedavisi için sadece birkaç ilaç onaylanmış fakat kullanımları uygunsuz tıbbi altyapılarda olup toksisite oluşturduğundan sınırlandırılmıştır. Bu çalışma ile çalışılan apiaceae türlerinin esansiyel yağlarının dokuz karakteristik özel bileşeni ( $\alpha$ -pinen, sabinen, a-phellandrene, pcymene, limonen,  $\beta$ -okimin,  $\gamma$ -terpinen, terpinolen ve miristisin) test edilerek, bazılarının yağlardan daha yüksek seçiciliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Apiaceae familyasından elde edilen bu sonuçlar uçucu yağların, HAT tedavisi için doğal ilaçların geliştirilmesinde öncü bileşikler olarak kullanılacak bir madde deposu olduğunu vurgulamaktadır.

Tuncay ve Yeşil, (2019), Türkiye'deki etnobotanik çalışmalardan elde edilen verilere göre Türkiye'de kimyon olarak kullanılan türlerin karşılaştırmalı meyve anatomisi ve türlerin morfolojisini inceleyerek, meyveler arasındaki farklılıkları ortaya çıkartmış türlerin daha kolay tanımlanabilmesi üzerine araştırmalar yapmışlardır. Türkiye'de kimyon olarak kullanılan dört türün (*Carum carvi* L., *Cuminum cyminum* L., *Laser trilobum* (L.) Borkh. ve *Grammosciadium daucoides* (DC.) meyve morfolojisinde önemli farklılıklar gözlenmiş ve meyve yüzeyinde yapılan mikromorfolojik çalışmalarda da belirgin farklılıkların tespiti sağlanmıştır. Örneğin, *Carum carvi* L. cinsinin Türkiye'de beş türü bulunmaktadır. Uçucu yağ taşıyan kokulu bitkilerdendir ve tohumu Frenk Kimyonu olarak bilinir. Avrupa ve

Türkiye'de baharat olarak kullanılır. Etnobotanik çalışmalar, *Carum carvi*'nin halk tıbbında meze, sindirim, afrodisyak olarak kullanıldığını göstermektedir. *Cuminum cyminum* L., Türkiye'deki tek *Cuminum* türüdür ve şizokarp meyvesinin her merikarpında kolayca görülen 5 kaburga vardır. Yüzeyi hafif tüylüdür. Etnobotanik çalışmalar, *Cuminum cyminum*'un halk hekimliğinde yaygın soğuk tedaviler için kullanıldığını göstermektedir. *Lazer trilobum*, Türkiye'de bu cinsin tek türüdür ve her merikarpıda 5 birincil ve 4 ikincil kaburga vardır. Etnobotanik çalışmalar, *lazer trilobumun* halk tıbbında diyabetik hastalık, karın ağrısı, sindirim ve kan basıncı tedavisinin tedavisinde kullanıldığını göstermektedir. *Grammosciadium* DC.'nin ise Türkiye'de 6 türü vardır. Ayrıca kimyon olarak kullanılan bu türün meyve anatomisi incelendiğinde salgı kanallarının yerleşimi ve primer veya sekonder kostaların varlığı nedeniyle önemli farklılıklara rastlanmıştır. Sonuç olarak, karşılaştırılan bu türler için hem morfolojik hem de anatomik karakterlere dayanan bir teşhis anahtarı sunulmuştur.

Jia vd., (2019), *Haplosphaera phaea*, Apiaceae familyasına ait Çin'de yayılış gösteren ve nesli tükenmekte olan bir türdür. *Haplosphaera phaea* Hand.-Mazz. ile diğer Apiaceae türleri arasındaki filogenetik ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için, *H. phaea*'nin tam kloroplast genomu belirlenerek 13 tür (dokuz cinsi içerir) (*Angelica*, *Apium*, *Bupleurum*, *Carum*, *Hansenia*, *Haplosphaera*, *Glehnia*, *Ligusticum*, *Pleurospermum*) ile Maximum Likelihood (ML) ağacı oluşturulmuş ve dış grup olarak *Bupleurum boissieuianum* H. Wolff seçilmiştir. Bildirilen kloroplast genomları ile yapılan filogenetik analiz sonucu göre *H. phaea*'nin, *Hansenia* cinsi ile aynı klad'da konumlandırıldığının tespiti sağlanmıştır.

Zengin vd., (2019), Apiaceae familyasından çeşitli türlerin, terapötik etkileri nedeniyle geleneksel kültürlerde yıllarca kullanılmış olduğunu ancak bitkilerin terapötik uygulamalar için kullanımının, toksisitesinin ve uygun dozajın farmakolojik olarak değerlendirilmesinin gerekliliği üzerine beş Apiaceae türü (*Falcaria vulgaris* Bernh. (FV), *Smyrniopsis aucheri* Boiss. (SA), *Smyrniopsis munzurdagensis* Yıldırım (SM), *Smyrniium cordifolium* Boiss. (SC) ve *Actinolema macrolema* Boiss. (AM) üzerinde araştırma yapmışlardır. Seçilen Apiaceae türlerinin metanol ekstraktlarının antioksidan, enzim inhibitörü (a-amilaz, a-glukosidaz, asetil- ve butirilkolinesteraz, lipaz ve tirozinaz), antimikrobiyal, fitokimyasal ve sitotoksikite profilleri belirlenmiştir. Araştırma yapılan analiz sonuçlarına göre, SC özütünün en yüksek fenolik oranına, AM

özütünün ise en yüksek flavonoid oranına sahip olduğu göstermiştir. Ayrıca, SC özütü, yüksek radikal süpürücü aktiviteyi azaltırken, SM özütü en yüksek kolinesterazın önleyici etkisini göstermiştir. HPLC-ESI-MS analizleri beş türün hepsinde ferulik asit bulunduğunu göstermiştir. SC özütü (35.68 mg gallik asit eşdeğer / g özütü) en yüksek fenolik oranı, AM özütü (56.79 mg rutin eşdeğer / g özütü) en yüksek flavonoid oranına sahiptir. HPLC-ESI-MS analizleri beş türün hepsinde ferulik asit bulunduğunu göstermiştir. SC özütü, yüksek radikal süpürücü aktiviteyi azaltırken, SM özütü en yüksek kolinesterazın önleyici etkisini göstermiştir. Ekstraktlar a-amilaza kıyasla a-glukosidaza karşı daha yüksek inhibisyon göstermiştir; SC ekstresi en aktif tirozinaz inhibitör etki gösterirken, FV ekstresi en iyi lipaz inhibitör etki göstermiştir ayrıca *A. fumigatus* büyümesini önlediği tespit edilmiştir. SM ekstraktı, *B. cereus*, *P. mirabilis*, *M. flavus*, *P. aeruginosa* ve *S. typhimurium*'a karşı güçlü antibakteriyel etki göstermiştir. Sitotoksisite faregillere ait RAW 264.7 makrofajı, insan embriyonik böbrek (HEK 293) ve insan hepatoselüler karsinom (HepG2) hücre çizgileri üzerinde değerlendirildi. FV (% 60.3) ve SM (% 57.4) RAW 264.7 makrofajında hücresel canlılıkta en yüksek azalmayı gösterirken, SM (% 74.1) HepG2'ye karşı toksisite göstermiştir. Sonuç olarak bu çalışma, Apiaceae türlerinin, birden fazla biyolojik aktiviteye sahip olan birkaç fitokimyasal sınıfı barındıran önemli tıbbi bitki türleri olarak kabul edilebilirliğini ve çeşitli insan hastalıklarının yönetimi için yeni farmakoforların geliştirilmesi için umut verici adaylar olarak kabul edilebilirliğini desteklemektedir.

Yapılan bu tez çalışmasının amacı, Türkiye'de yayılış gösteren *Carum* cinsine ait türlerin daha önce temin ve teşhisi yapılan ve türlerin yayılışlarına göre morfolojik teşhisi doğrulamak ve yakın taksonlarını belirlenmesi için ITS, *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* bölgelerinden alınan sekans karşılaştırılmasına dayalı yöntemlerle, daha sonraki tarımsal ve farmakolojik çalışmalara ışık tutması açısından güdümlü proje olarak eksikliklerinin tamamlanması amacıyla gerçekleştirilmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Çalışma materyalini oluşturan *Carum* L. cinsine ait türler (*C. carvi* L., *C. caucasicum* (Bieb.) Boiss., *C. leucocoleon* Boiss. & Huet, *C. meifolium* (Bieb.) Boiss., *C. rupicola* Hartvig & Strid) yayılış gösterdiği lokalitelerden Munzur Üniversitesi/Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümünden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY tarafından toplanmış olup temini ve teşhisi sağlanmıştır. Temini sağlanan bitki örneklerinin toplandığı lokaliteler Şekil 3.1’de harita üzerinde gösterilmiş olup Çizelge 3.1’de incelenen taksonların toplanma lokaliteleri sunulmuştur. Toplanan bitki örneklerinin teşhislerinde Davis’in editörü olduğu Türkiye Florası’nın 4. cildinde (Davis, 1972) yer alan ve revizyonu yapılan çalışmadan faydalanılmıştır.



Şekil 3.1. *Carum* L. taksonlarının toplandığı lokaliteler (Anonim, 2020; TÜBİVES 2020)

Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren *Carum* L. cinsine ait türler Çizelge 3.1’de verilmiş ve endemik olanlar (E) kısaltması ile belirtilmiştir. Bu taksonlar florada belirtilen bölgelerden toplanmıştır.

Çizelge 3.1. *Carum* L. türlerinin toplandığı lokaliteler

<b>Tür Adı</b>	<b>Toplandığı Lokaliteler/ Toplandığı Tarih/ Toplayan</b>
<b><i>Carum carvi</i> L.</b>	Posof; Asmakonak-Çamyazı köyleri arası, dağ stebi, 2000-2100 m., 20.07.2017, M. Yavuz PAKSOY
<b><i>Carum carvi</i> L.</b>	Van; Gürpınar, Zerneke Barajı ile Hosap arası, çayırılık, 1850 m., 13.06.2016, M. Yavuz PAKSOY
<b><i>Carum caucasicum</i> (Bieb.) Boiss.</b>	Rize; Çamlıhemşin, Yukarı Kavrun yaylası, alpinik step, 2900 m., 02.08.2017, M. Yavuz PAKSOY
<b><i>Carum leucocoleon</i> Boiss. &amp; Huet</b>	Kars; Posof, Ulgar dağı, çayırılık yerler, 2230 m., 20.07.2017, M. Yavuz PAKSOY
<b><i>Carum meifolium</i> (Bieb.) Boiss.</b>	Erzurum; Pasinler, Yukarı Çakmak ve Alvar köyleri arası, mera ve step, 1860 m., 18.07.2017, M. Yavuz PAKSOY
<b><i>Carum rupicola</i> Hartvig &amp; Strid (E)</b>	Antalya; Tahtalı Dağı, Yukarı Beycik köyünün üst kesimleri, kayalık yamaçlar, 2300 m., 29.06.2017, M. Yavuz PAKSOY

### 3.1.2. Dış Grup Seçimi

Türkiye'deki mevcut bitki türlerinin tümünün yer aldığı TÜBİVES veri servisi ve yapılan literatür taramalarına göre, ITS, *trnL*-F, *trnL* intron ve *rbcL* bölgelerine dayalı filogeni çalışmalarında *Carum* L. cinsine en yakın çıkan taksonlar belirlenerek, dış grup olarak seçilen *Sanicula europaea* L. türü NCBI'dan alınan referans numaraları ile filogenetik analizlere dahil edilmiş olup genbank numaraları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Dış grup olarak seçilen *Sanicula europaea* türüne ait genbank (NCBI) numaraları

ITS	<i>trnL-F</i>	<i>trnL</i> intron	<i>rbcL</i>
MH377872.1	MH377906.1	MH377889.1	KX678054.1

### 3.1.3. Kullanılan Cam Malzeme ve Plastik Malzemelerin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan pipet uçları, mikropipetler, endorf tüpleri, PCR tüpleri, çözeltiler, cam malzemeler ve ısıya dayanıklı diğer malzemeler çalışmaya başlamadan önce 121 °C de 15 dakika süreyle 1 atmosfer basınçta otoklavlanıp sterilize edilerek kontaminatlardan arındırıldı.

### 3.1.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

#### 3.1.4.1. Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

Bitki materyallerinin genomik DNA'sı GeneMark Plant Genomic DNA Purification Kit (Katolog numarası: DP022) ile izole edildi. Kitteki solüsyonlar şunlardır: Extraction Solution A, RNase A Solution, Precipitation Solution, Binding Solution-Etanol, Wash Solution, Elution Solution.



Şekil 3.2. DNA izolasyonunda kullanılan kit ve kimyasallar

### 3.1.4.2. PCR' de Kullanılan Kimyasallar

PCR reaksiyonlarında kullanılan kimyasallar Master Mix (5X), yükleme boyası, markör ve primerlerdir. Primerlerden stok hazırlamak için yaklaşık 15 sn 12.000 rpm'de sentrifüj yapılarak kuru çökeltinin tüpün dibinde toplanması sağlandı ve daha sonra her bir primer 1 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözülerek stok hazırlanmıştır. Her bir primerin son konsantrasyonu 5 nmol/ml (5 µM) olacak şekilde sulandırıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin DNA dizileri Çizelge 3.3'de verilmiştir. PCR'de kullanılan diğer kimyasallar ve miktarları da Çizelge 3.4'de ki gibidir.

Çizelge 3.3. Çekirdek ITS primerleri ile kloroplast *trnL* intron, *trnL-F* ve *rbcL* bölgesine ait primerlerin dizilimi

Primerler	Nükleotid Dizisi (5'-3')	Kaynak
ITS5A (F)	5'-CCTTATCATTAGAGGAAGGAG-3'	White vd., 1990.
ITS4 (R)	5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	White vd., 1990.
<i>trnL</i> e (F)	5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trnL</i> f (R)	5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trn</i> c (F)	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trn</i> d (R)	5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3'	Taberlet vd., 1991
<i>rbcL</i> a (F)	5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3'	Levin vd., 2003

Çizelge 3.3. Çekirdek ITS primerleri ile kloroplast *trnL* intron, *trnL*-F ve *rbcL* bölgesine ait primerlerin dizilimi (devam)

<b><i>rbcLa</i> (R)</b>	5'-GTAAAATCAAGTCCACCRG-3'	Kress ve Erickson, 2007
-------------------------	---------------------------	-------------------------

Çizelge 3.4. PCR'de (polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılan kimyasallar

<b>Kimyasalın Adı</b>	<b>Miktarı</b>	<b>Konsantrasyon</b>
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	18 µl	-
<b>Forward Primer</b>	1 µl	pmol/ml
<b>Reverse Primer</b>	1 µl	pmol/ml
<b>Master Mix</b>	5 µl	5 ünite
<b>gDNA</b>	1 µl	
<b>Toplam</b>	25µl	

## 3.2. Metot ve Yöntem

### 3.2.1. GeneMark Kiti ile Yapılan DNA İzolasyonu

(0,9 g)'dan az bir bitki dokusu havanda ezildi.

Ezilen materyal 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Üzerine;

- 360 ml Extraction Solution A
- 40 ml Extraction Solution B
- 4 ml RNase A Solution, eklendi.

Sonrasında 5-10 sn Vorteks yapılarak 65°C’de 20 dk su banyosuna bırakıldı. Su banyosundan alınan örnekler 130 ml Precipitation Solution eklenerek 5 dk buzda inkübe edildi ve oda sıcaklığında (14-16.000 xg)’de 5 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj etkisiyle oluşan süpernatant kısmı; 2 ml’lik Collection Tube + Spin Filter’ a aktarıldı ve 2 dk santrifüj edilerek kirli bitki aksanlarının temizlenmesi sağlandı.

Filtrate’ı 1.5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne pipetaj yapılmadan aktarıldı. Üzerine 350 ml Binding Solution-Etanol ilave edilerek DNA gözlemlendi.

Oluşan karışım Spin-Colonum + Collection Tube aktarılarak 1 dk santrifüj edildi.

Filtrat atılarak 500 ml’lik Wash Solution eklenerek 5 dakika santrifüj ederek DNA’nın tuz ve kirden arınımı sağlandı ve bu işlem 2 oturum halinde tekerrür edildi. 2. Oturumda filtrat atılarak 250 ml’lik Wash Solution eklenerek 2 dakika santrifüj edildi.

Arındırılmış DNA yeni mikrosantrifüj tüpüne transfer edilerek; 60-65°C, 150 ml Elution Solution ilavesi ile 1 dk santrifüj edilerek DNA eldesi sağlandı.

### **3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (PCR) Kullanılan Protokoller**

İzole edilen genomik DNA’ların çoğaltılmasında kullanılan primerler ve uygulanan PCR protokolleri aşağıda çizelgeler halinde verilmiştir. PCR yoluyla çoğaltılan gen bölgeleri 200 µl’lik tüplerde; 50pmol/µl’lik primerlerden (forward-reverse) 1 µl, master mix’ten 5 µl, kalıp DNA’dan 1 µl ve dH<sub>2</sub>O’dan 18 µl alınarak, PCR toplam reaksiyon hacmi 25µl olacak şekilde hazırlanmıştır. PCR uygulamalarında olası bir kontaminasyonu engellemek için her uygulamada, genomik DNA içermeyen negatif kontroller kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. ITS primerleri için kullanılan pcr programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
<b>Ön Isıtma (Ön Denatürasyon)</b>	94 °C / 5 dk	1 Devir
<b>1. Basamak (Denatürasyon)</b>	94 °C / 45 sn	35 Devir
<b>2. Basamak (Primer Bağlanması)</b>	50 °C / 45 sn	
<b>3. Basamak (Uzama)</b>	72 °C / 1 dk	
<b>4. Basamak (Son Uzama)</b>	72 °C / 10 dk	1 Devir

Çizelge 3.6. *trnL*-F primerleri için kullanılan pcr programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
<b>Ön Isıtma (Ön Denatürasyon)</b>	94 °C / 5 dk	1 Devir
<b>1. Basamak (Denatürasyon)</b>	94 °C / 45 sn	35 Devir
<b>2. Basamak (Primer Bağlanması)</b>	50 °C / 45 sn	
<b>3. Basamak (Uzama)</b>	72 °C / 1 dk	
<b>4. Basamak (Son Uzama)</b>	72 °C / 10 dk	1 Devir

Çizelge 3.7. *trnL* intron primerleri için kullanılan pcr programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
<b>Ön Isıtma (Ön Denatürasyon)</b>	94 °C / 5 dk	1 Devir
<b>1. Basamak (Denatürasyon)</b>	94 °C / 45 sn	35 Devir
<b>2. Basamak (Primer Bağlanması)</b>	50 °C / 45 sn	
<b>3. Basamak (Uzama)</b>	72 °C / 1 dk	
<b>4. Basamak (Son Uzama)</b>	72 °C / 10 dk	1 Devir

Çizelge 3.8. *rbcL* primerleri için kullanılan pcr programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön Isıtma (Ön Denatürasyon)	94 °C / 3 dk	1 Devir
1. Basamak (Denatürasyon)	94 °C / 1 dk	35 Devir
2. Basamak (Primer Bağlanması)	55 °C / 1 dk	
3. Basamak (Uzama)	72 °C / 1 dk	
4. Basamak (Son Uzama)	72 °C / 7 dk	1 Devir

### 3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR sonucunda oluşan bantların gözlenmesi için %0,1'lik agaroz jel elektroforezi yapıldı. Bunun için 0,75 g agaroz tartıldı ve bir erlenmeyer içerisinde 75 mL 1XTBE tamponu ile mikrodalga fırında kaynatılarak çözüldü (yaklaşık 2 dk). Karışım 50°C-60°C'ye kadar soğutulurken içerisine 1-1.5 µl Etidyum bromid (EtBr) ilave edildi. Tampon, tarakları önceden yerleştirilmiş jel kasetine döküldü ve polimerleşmesi için 25-30 dk bekletilerek jelin donması sağlandı. Jel polimerleştikten sonra kasetten taraklar dikkatli bir şekilde çekilerek çıkartıldı. Hazırlanan jel, elektroferez tankına yerleştirilip üzeri kaplanıncaya kadar 1X TBE tamponu ile dolduruldu.

5 µl PCR ürünü, 1 µl yükleme boyası (6X DNA loading dye) ile boyandı ve kuyucuklara pipet yardımıyla yüklendi. PCR ürününün büyüklüğünü belirleyebilmek amacıyla 4 µl DNA büyüklük belirleyici (1 kb DNA ladder) boş bir kuyucuğa yüklendi. Örnekler 90 voltta 30-40 dk yürütüldü. Daha sonra kullanılan jel, jel görüntüleme cihazına alındı. UV ışığı altında bantlar gözlemlendi ve fotoğraf makinesi yardımıyla fotoğrafları çekilip veriler kaydedildi.





Şekil 3.3. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan kimyasallar

### 3.2.4. Biyoinformatik Analiz

#### 3.2.4.1. Dizileme ve Dizi Analizi

Çeşitli primerler kullanılarak çoğaltılan bölgelerin DNA dizilerini elde etmek için, TRIÖGEN BİYOTEKNOLOJİ (İstanbul) firmasına gönderilerek hizmet alımı yapıldı. Hizmet alımının detayları Bulgular 4.3. bölümünde detaylı bir şekilde açıklanmıştır. *ABI prism* formatında tarafımıza ulaştırılan dosyalardan, gelen örneklerin DNA dizilerinin işlenmesi için Finch TV ve BioEdit (Hall, 1999) programları kullanıldı. Her bir türe ait olarak gelen ileri (forward) ve geri (reverse) dizilerden kontig (contig) oluşturuldu. Dizileme reaksiyonlarını gerçekleştiren cihazın yanlış okumuş olduğu bazı bazlar, kromatogramdaki (videogram) sinyallerin (piklerin) güçlülüğüne, temizliğine bakılarak DNA dizileri el ile görsel olarak düzeltildi ve ortak karar (konsensus) dizileri oluşturuldu. Oluşturulan konsensus dizileri Word'e kopyalandı ve dizi hizalaması için kullanıma hazır hale getirildi. Dizi hizalaması için MEGA 6.0 (Tamura vd., 2013) programı kullanıldı. Word'e FASTA formatında kopyalanan diziler MEGA 6.0 programında varsayılan ayarların komutları kullanılarak dizi hizalaması gerçekleştirildi ve türler arasındaki baz farklılıklarının tespiti sağlandı. Ayrıca işlenip hizalanan diziler BLAST edilerek yapılan işlemin doğruluğu yüzdelerle değerlendirildi.

### 3.2.5. Filogenetik Analiz

*Carum* L. cinsine ait türlerin Microsoft Office Word programı yardımıyla FASTA formatına çevrilen DNA dizileri sekans verileri düzenlendikten sonra MEGA 6.0 programı kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Bu kapsamda; *Carum* L. türlerine ait popülasyonların; nükleotid kompozisyonu, A+T ve G+C oranları ve türler arası genetik uzaklık değerleri belirlendi. Dış grup olarak NCBI'dan alınan genbank numaraları ile (Çizelge 3.2) *Sanicula europaea* L. türü istatistiksel analizlere dahil edildi. Elde edilen sekans sonuçları neticesinde, MEGA 6.0 programına ait filogenetik analiz yazılımının uygun parametreleri kullanılarak türler arasındaki akrabalık ilişkilerini ortaya koyan uygun kriterli filogenetik ağaçlar oluşturuldu. Mesafe temelli yöntemlerden biri olan Neighbor-Joining (NJ) (Saitou ve Nei, 1987) ve karakter temelli yöntemlerden biri olan Maximum Likelihood (ML) metodu ile filogenetik analiz yapıldı.

## 4. BULGULAR

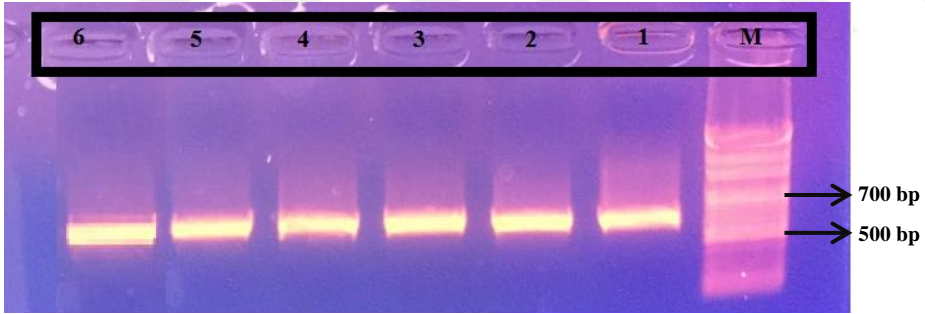
### 4.1. DNA İzolasyonu

Bitki örneklerinin genomik DNA'ları materyal ve yöntemde bahsedilen GeneMark ticari kitinin izolasyon protokolleri takip edilerek elde edildi.

### 4.2. PCR Sonuçları

#### 4.2.1. ITS PCR Reaksiyonları

İzole edilen gDNA'lara; ITS4, ITS5A primerleri ve gerekli kimyasallar (Çizelge 3.4) kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. Böylelikle PCR sonucunda taksonların gDNA'sının ITS bölgesi çoğaltıldı. Elde edilen *Carum* L. türlerine ait ITS bantlarının agaroz jel görüntüsü ise Şekil 4.1'deki gibidir.

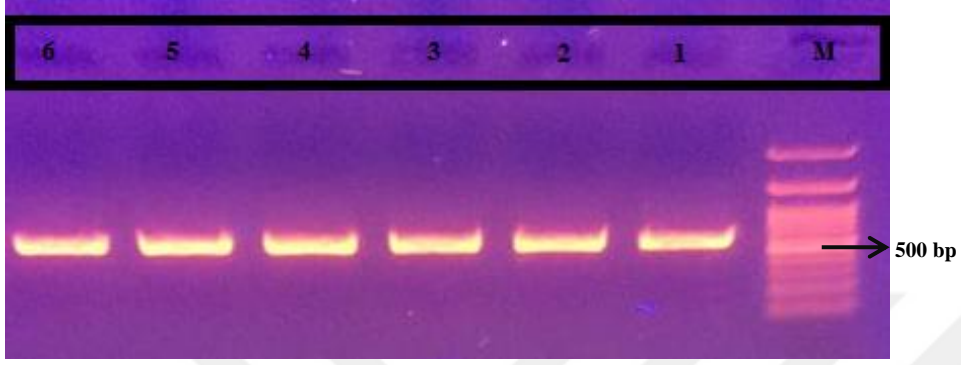


Şekil 4.1. *Carum* L. türlerinin ITS bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Carum carvi* Ardahan, 2: *Carum carvi* Van, 3: *Carum caucasicum* Rize, 4: *Carum leucocoleon* Ardahan, 5: *Carum meifolium* Erzurum, 6: *Carum rupicola* Antalya

#### 4.2.2. *trnL-F* PCR Reaksiyonları

İzole edilen gDNA'lara; *trnLe*, *trnFf* primerleri ve gerekli kimyasallar (Çizelge 3.4) kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. Böylelikle PCR sonucunda taksonların gDNA'sının *trnL-F* bölgesi çoğaltıldı. Elde edilen *Carum* L. türlerine ait *trnL-F* bantlarının agaroz jel görüntüsü ise Şekil 4.2'deki gibidir.

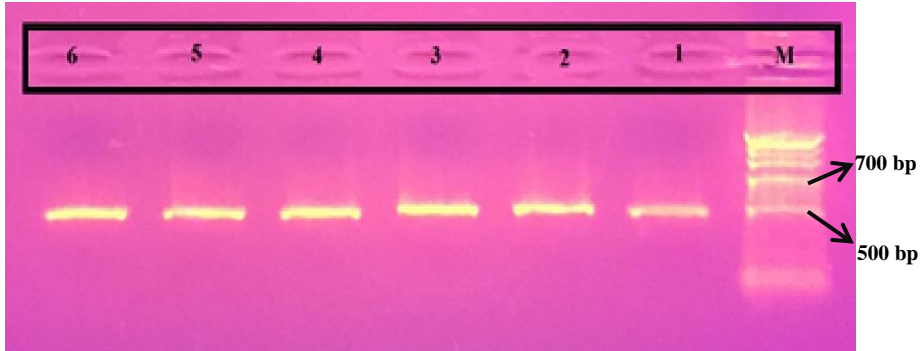


Şekil 4.2. *Carum* L. türlerinin *trnL*-F bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Carum carvi* Ardahan, 2: *Carum carvi* Van, 3: *Carum caucasicum* Rize, 4: *Carum leucocoleon* Ardahan, 5: *Carum meifolium* Erzurum, 6: *Carum rupicola* Antalya

#### 4.2.3. *trnL* intron PCR Reaksiyonları

İzole edilen gDNA'lara; *trncF*, *trndR* primerleri ve gerekli kimyasallar (Çizelge 3.4) kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. Böylelikle PCR sonucunda taksonların gDNA'sının *trnL* intron bölgesi çoğaltıldı. Elde edilen *Carum* L. türlerine ait *trnL* intron bantlarının agaroz jel görüntüsü ise Şekil 4.3'deki gibidir.

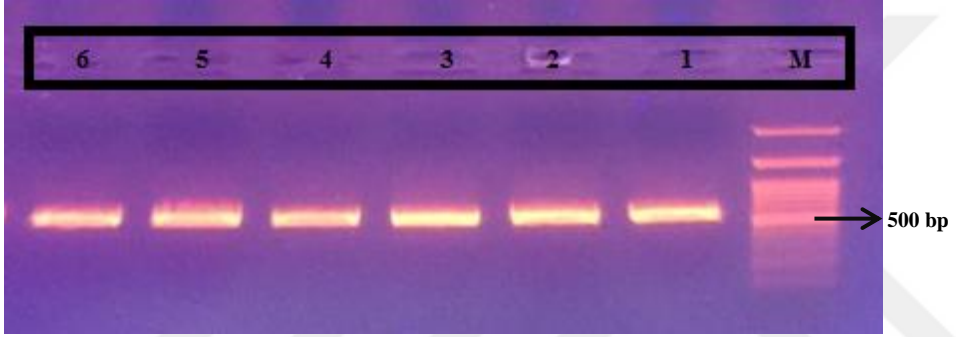


Şekil 4.3. *Carum* L. türlerinin *trnL* intron bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Carum carvi* Ardahan, 2: *Carum carvi* Van, 3: *Carum caucasicum* Rize, 4: *Carum leucocoleon* Ardahan, 5: *Carum meifolium* Erzurum, 6: *Carum rupicola* Antalya

#### 4.2.4. *rbcL* PCR Reaksiyonları

İzole edilen gDNA'lara; *rbcLaF*, *rbcLaR* primerleri ve gerekli kimyasallar (Çizelge 3.4) kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirildi. Böylelikle PCR sonucunda taksonların gDNA'sının *rbcL* bölgesi çoğaltıldı. Elde edilen *Carum L.* türlerine ait *rbcL* bantlarının agaroz jel görüntüsü ise Şekil 4.4'deki gibidir.



Şekil 4.4. *Carum L.* türlerinin *rbcL* bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Carum carvi* Ardahan, 2: *Carum carvi* Van, 3: *Carum caucasicum* Rize, 4: *Carum leucocoleon* Ardahan, 5: *Carum meifolium* Erzurum, 6: *Carum rupicola* Antalya

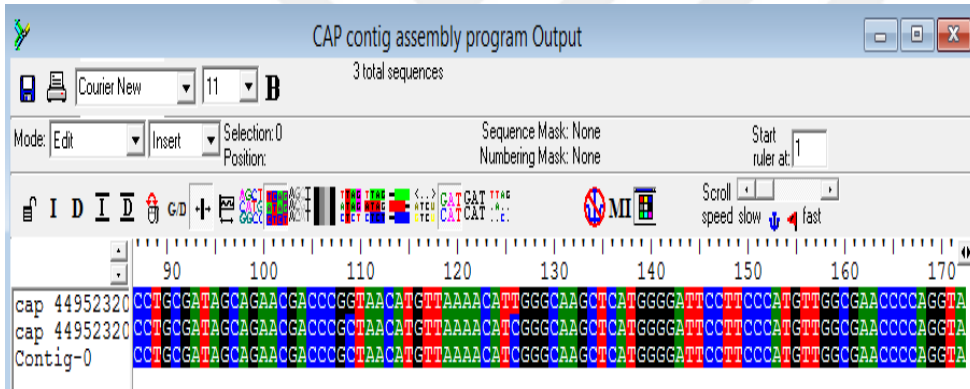
### 4.3. Dizileme ve Dizi Analizi

#### 4.3.1. Dizileme Reaksiyonu

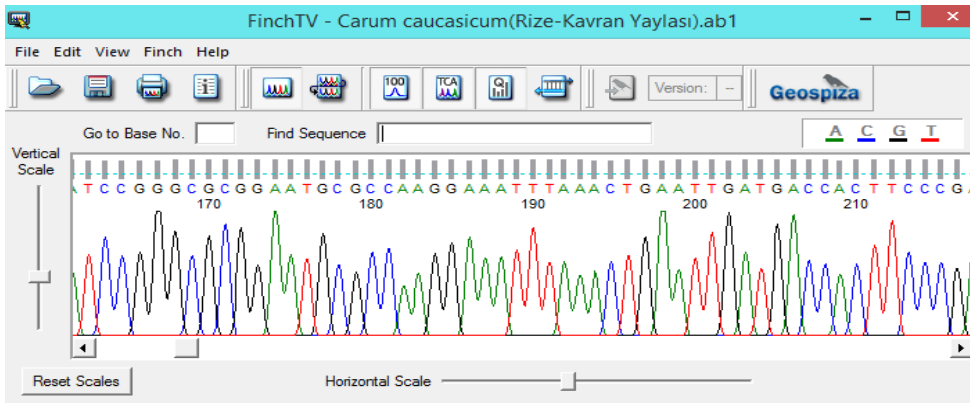
Çalışmada kullanılan bitki materyallerine ait örneklerin PCR reaksiyonuyla ITS, *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* bölgeleri çoğaltıldı. PCR ile elde edilen PCR ürünlerinin saflaştırılması ve dizilenmesi (Cycle sequencing) reaksiyonları için TRİOGEN BİYOTEKNOLOJİ firmasına hizmet alımı yapılmak üzere gönderildi. Hizmet alımı; PCR ürünlerinin saflaştırılması, dizileme reaksiyonları (cycle sequencing), dizileme ürünlerinin saflaştırılması (purification) ve poliakrilamid jel elektroforezi yardımıyla dizileme ürünlerinin kromatogramlar (elektroferogramlar) haline getirilmesi kısımlarından içermektedir. Gerçekleştirilen dizileme reaksiyonlarının sonuçları *ABI prism* formatındaki dosyalar şeklinde bizlere ulaşımı sağlandı.

### 4.3.2. Dizilerin İşlenmesi

*ABI prism* formatındaki dosyalar şeklinde gelen DNA dizilerin işlenmesi için Finch TV ve BioEdit (Hall, 1999) programı kullanıldı. Her bir türe ait olarak gelen ileri (forward) ve geri (reverse) dizilerden kontig oluşturuldu. Dizileme reaksiyonlarını gerçekleştiren cihazın yanlış okumuş olduğu bazı bazlar, kromatogramdaki (videogram) sinyallerin (piklerin) güçlülüğüne, temizliğine bakılarak el ile görsel olarak düzeltildi ve kontig dizileri elde edildi. Böylelikle çalışılan taksonların ITS, *trnL*-F, *trnL* intron ve *rbcL* gen bölgelerine ait DNA dizileri elde edildi.



Şekil 4.5. BioEdit programında DNA dizilerinin gösterimi



Şekil 4.6. Finch TV programında DNA dizilerinin gösterimi



#### 4.3.4. Filogenetik Analiz

*Carum* L. cinsine ait türlerin Microsoft Office Word programı yardımıyla FASTA formatına çevrilen DNA dizileri sekans verileri MEGA 6.0 programı kullanılarak analiz edildi. *Carum* L. türlerine ait popülasyonların sekans analiz sonuçlarına göre; nükleotid kompozisyonu, A+T ve G+C oranları ve türler arası genetik uzaklık değerleri hesaplanarak türler arasındaki akrabalık ilişkilerini ortaya koyan uygun kriterli filogenetik ağaçlar oluşturuldu. Mesafe temelli yöntemlerden biri olan Neighbor-Joining (NJ) ve karakter temelli yöntemlerden biri olan Maximum Likelihood (ML) metodu kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlar ve filogenetik analize dayalı yorumlar tartışma ve sonuç bölümünde sunulmuştur.



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye’de yayılış gösteren *Carum* cinsine ait türlerin ITS, *trnL-F*, *trnL* intron ve *rbcL* sekansının belirlenerek yapılan bu çalışma sayesinde gelecekte yapılacak olan türler arası morfolojik, anatomik ve moleküler çalışmalara yol gösterici olması hedeflenmiştir.

### 5.1. ITS Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

#### 5.1.1. *Carum L.* Türlerine Ait ITS Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

Çizelge 5.1. *Carum L.* türlerine ait ITS Bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri

Popülasyon Adı	ITS (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)	658	%24,0	%23,4	%26,9	%25,7	%47,4	%52,6
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	655	%23,8	%23,7	%26,9	%25,6	%47,5	%52,5
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	642	%23,0	%23,4	%27,4	%26,2	<b>%46,4</b>	<b>%53,6</b>
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	647	%24,1	%23,5	%26,9	%25,5	%47,6	%52,4
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>664</b>	%24,1	%23,6	%27,0	%25,3	%47,7	%52,3
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	<b>638</b>	%24,1	%23,8	%26,5	%25,5	<b>%47,9</b>	<b>%52,0</b>
Ortalama	<b>650,6</b>	<b>%23,8</b>	<b>%23,5</b>	<b>%26,9</b>	<b>%25,6</b>	<b>%47,4</b>	<b>%52,5</b>

*Carum L.* türlerine ait ITS bölgelerinin baz kompozisyon içerikleri incelendiğinde; ortalama baz uzunluğu 650,6 bp olup, en fazla baz uzunluğu *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) (664 bp) türünde, en az baz uzunluğu ise *Carum carvi*

(Van/Başkale) (638 bp) türünde gözlemlenmiştir. *Carum* L. türlerinin T, C, A ve G baz kompozisyonlarına ait ortalama değerlerinin ise Timin bazında %23,5; Sitozin bazında %25,6; Adenin bazında %23,8; Guanin bazında ise %26,9 değer ile birbirlerinden çok farklı olmadığı belirlenmiştir. Adenin + Timin bazının en çok olduğu tür *Carum carvi* (Van/Başkale) (%47,9) türü iken, Adenin + Timin bazının en az olduğu tür ise *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (%46,4) olmuştur. Guanin + Sitozin bazının en çok olduğu tür *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (%53,6) türü iken, Guanin + Sitozin bazının en az olduğu tür ise *Carum carvi* (Van/Başkale) (%52,0) olarak belirlenmiştir. Ortalama değerler toplamının türlerdeki (A + T) oranı %47,4 ve (G + C) oranının ise %52,5 olduğu, *Carum* L. türlerine ait ITS bölgelerinin G-C bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

### 5.1.2. *Carum* L. Türlerine Ait ITS Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi

Çizelge 5.2. *Carum* L. türlerine ait ITS bölgelerinin genetik uzaklık matrisi

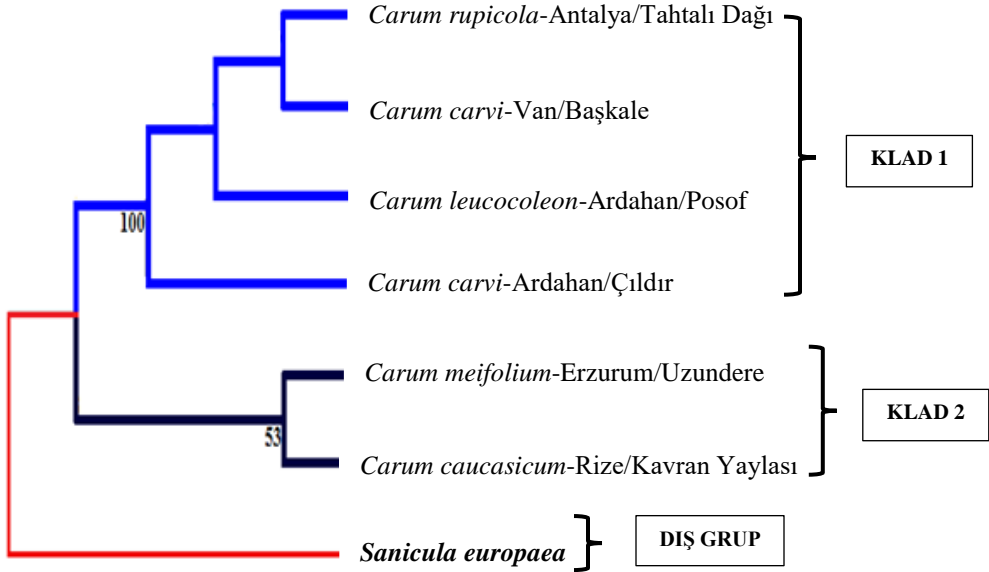
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)							
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	0.053						
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	0.036	0.045					
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	<b>0.000</b>	0.053	0.036				
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>0.000</b>	0.053	0.036	<b>0.000</b>			
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	<b>0.000</b>	0.053	0.036	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>		
<i>Sanicula europaea</i>	0.267	<b>0.290</b>	0.262	0.267	0.267	0.267	

Türler arası genetik uzaklık matrisi MEGA 6.0 programı kullanılarak yapıldı. Birbirine en yakın olan türler arasındaki değer 0.000'dır. Birbirine en uzak olan

türler; *Sanicula europaea* (dış grup) ile *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) türleri arasında olup bu değer 0.290'dır.

### 5.1.3. ITS Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı

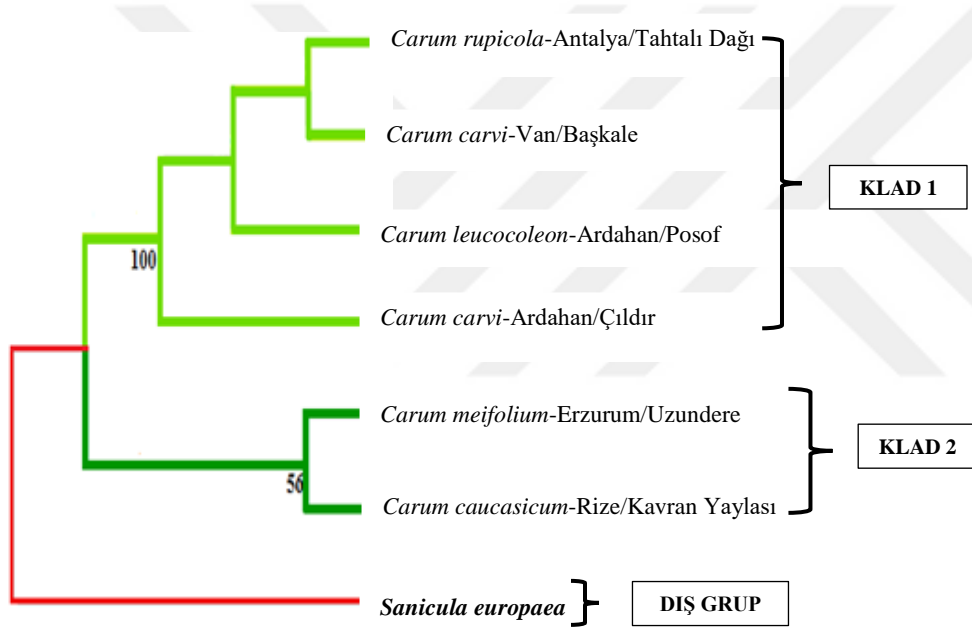
Filogenetik analizde ülkemizde 5 türle temsil edilen *Carum* cinsine ait türlerin Çizelge 3.1'de verilen lokalitelerden toplanmış olup, çalışmamızda filogenetik analizlerde kullanılmak üzere *Sanicula europaea* türü dış grup olarak seçilerek sekans dizisi NCBI'dan temin edilmiştir. MEGA 6.0 programı kullanılarak karakter tabanlı metotlardan biri olan Maximum Likelihood (ML) ve kümeleme tabanlı metotlardan biri olan Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile ağaç oluşturulmuştur (Şekil 5.1) (Şekil 5.2). ITS bölgesine ait filogenetik analizler sonucunda oluşturulan Maximum Likelihood (ML) ve Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile elde edilen filogenetik ağaçların her ikisinde de gruplaşma tespit edilmiştir.



Şekil 5.1. ITS bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı

Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağaç iki kladdan oluşmuştur (Şekil 5.1). Klad 1; *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı), *Carum carvi* (Van/Başkale), *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) ve *Carum carvi*

(Ardahan/Çıldır) türlerinden oluşmuştur. Klad 1'i meydana getiren türlerin monofiletik grup oluşturduğu ve %100 bootstrap değeri ile desteklendiği gözlenmiştir. Klad 2'yi meydana getiren *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) ve *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) türlerinin monofiletik grup oluşturduğu ve filogenetik olarak %53 oranında bootstrap değeri ile desteklendiği gözlenmiştir.



Şekil 5.2. ITS bölgesinin Neighbor-Joining analizi sonucu oluşan ağacı

Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağacın ITS sekansına ait moleküler verilerinin doğrultusunda Maximum Likelihood yöntemi ile oluşturulan ağaç ile benzer olduğunun tespiti sağlanmıştır. Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile oluşturulan ağaç iki kladdan oluşmuştur (Şekil 5.2). Klad 1; *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı), *Carum carvi* (Van/Başkale), *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) ve *Carum carvi* (Ardahan/Çıldır) türlerinden oluşmuştur. Klad 1'i meydana getiren türlerin monofiletik grup oluşturduğu ve %100 bootstrap değeri ile desteklendiği gözlenmiştir. Klad 2'yi meydana getiren *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) ve *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) türlerinin monofiletik grup oluşturduğu ve filogenetik olarak %56 oranında bootstrap değeri ile desteklendiği gözlenmiştir.

## 5.2. *trnL-F* Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

### 5.2.1. *Carum L.* Türlerine Ait *trnL-F* Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

Çizelge 5.3. *Carum L.* türlerine ait *trnL-F* bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri

Popülasyon Adı	<i>trnL-F</i> (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)	400	%33,5	%30,8	%18,5	%17,3	%64,3	%35,8
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	398	%33,4	%30,7	%18,6	%17,3	%64,1	%35,9
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	402	%33,1	%31,1	%18,4	%17,4	%64,2	%35,8
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>411</b>	%33,6	%30,7	%18,5	%17,3	%64,3	%35,8
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	403	%33,3	%32,0	%18,1	%16,6	<b>%65,3</b>	<b>%34,7</b>
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	<b>329</b>	%32,2	%31,6	%17,9	%18,2	<b>%63,8</b>	<b>%36,1</b>
<b>Ortalama</b>	<b>390,5</b>	<b>%33,2</b>	<b>%31,1</b>	<b>%18,3</b>	<b>%17,3</b>	<b>%64,3</b>	<b>%35,7</b>

*Carum L.* türlerine ait *trnL-F* bölgelerinin baz kompozisyon içerikleri incelendiğinde; ortalama baz uzunluğu 390,5 bp olup, en fazla baz uzunluğu *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) (411 bp) türünde, en az baz uzunluğu ise *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (329 bp) türünde gözlemlenmiştir. *Carum L.* türlerinin T, C, A ve G baz kompozisyonlarına ait ortalama değerlerinin ise Timin bazında %31,1; Sitozin bazında %17,3; Adenin bazında %33,2; Guanin bazında ise %18,3 değere sahip olduğu belirlenmiştir. Adenin + Timin bazının en çok olduğu tür *Carum carvi* (Van/Başkale) (%65,3) türü iken, Adenin + Timin bazının en az olduğu tür ise *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (%63,8) olmuştur. Guanin + Sitozin bazının en çok olduğu tür *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (%36,1) türü iken, Guanin + Sitozin bazının en az olduğu tür ise *Carum carvi* (Van/Başkale) (%34,7) olarak belirlenmiştir. Ortalama

değerler toplamının türlerdeki (A + T) oranı %64,3 ve (G + C) oranının ise %35,7 olduğu, *Carum* L. türlerine ait *trnL-F* bölgelerinin A-T bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

### 5.2.2. *Carum* L. Türlerine Ait *trnL-F* Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi

Çizelge 5.4. *Carum* L. türlerine ait *trnL-F* bölgelerinin genetik uzaklık matrisi

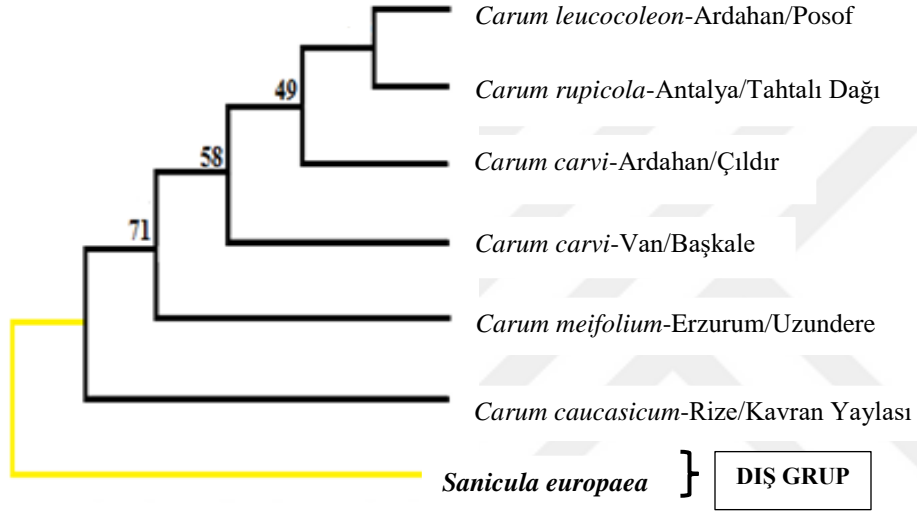
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)							
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	<b>0.000</b>						
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	0.008	0.008					
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.008				
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	0.008	0.008	0.016	0.008			
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	0.066	0.066	0.074	0.066	0.074		
<i>Sanicula europaea</i>	0.098	0.098	0.107	0.098	0.097	<b>0.138</b>	

Türler arası genetik uzaklık matrisi MEGA 6.0 programı kullanılarak yapıldı. Birbirine en yakın mesafede olan türler arasındaki değer 0.000'dır. Birbirine en uzak olan türler; *Sanicula europaea* (dış grup) ile *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) türleri arasında olup bu değer 0.138'dir.

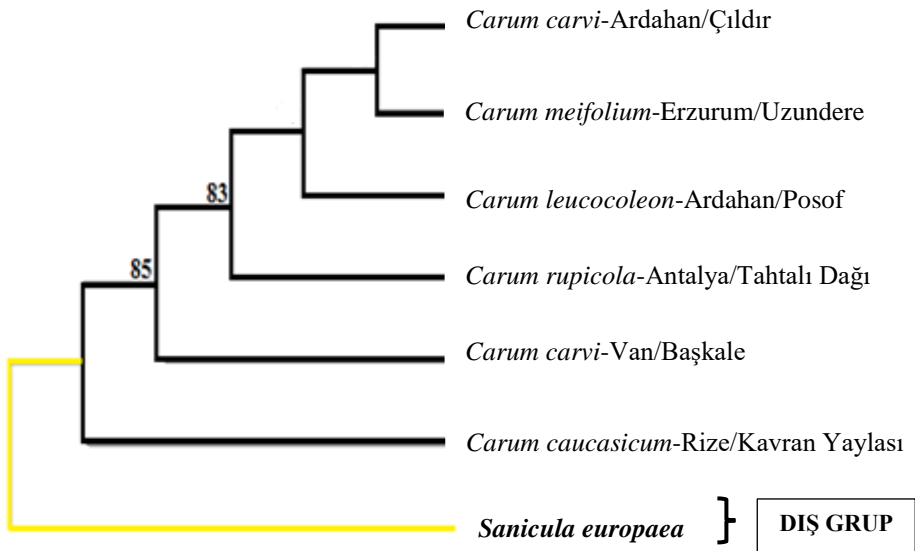
### 5.2.3. *trnL-F* Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı

Filogenetik analizde ülkemizde 5 türle temsil edilen *Carum* cinsine ait türlerin Çizelge 3.1'de verilen lokalitelerden toplanmış olup, çalışmamızda filogenetik analizlerde kullanılmak üzere *Sanicula europaea* türü dış grup olarak seçilerek sekans dizisi NCBI'dan temin edilmiştir. MEGA 6.0 programı kullanılarak karakter tabanlı metotlardan biri olan Maximum Likelihood (ML) ve kümeleme tabanlı metotlardan biri olan Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile ağaç oluşturulmuştur (Şekil 5.3) (Şekil 5.4). *trnL-F* bölgesine ait filogenetik analizler

sonucunda oluşturulan Maximum Likelihood (ML) ve Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile elde edilen filogenetik ağaçlarda türler arasında gruplaşma sağlanmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 5.3. *trnL-F* bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı



Şekil 5.4. *trnL-F* bölgesinin Neighbor-Joining analizi sonucu oluşan ağacı

Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining yöntemi ile oluşturulan ağaçları *trnL*-F verileri doğrultusunda ITS verileri sonucu oluşturulan ağaçlarla kıyasladığımızda, ITS ağaçlarında (Şekil 5.1) (Şekil 5.2) gruplaşma sağlandığı fakat *trnL*-F ağaçlarında (Şekil 5.3) (Şekil 5.4) gruplaşma sağlanmadığı dolayısıyla ITS ve *trnL*-F verileri sonucunda oluşturulan ağaçların birbirlerini desteklemediği tespit edilmiştir.

### 5.3. *trnL* intron Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

#### 5.3.1. *Carum L.* Türlerine Ait *trnL* intron Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

Çizelge 5.5. *Carum L.* türlerine ait *trnL* intron bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri

Popülasyon Adı	<i>trnL</i> intron (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	482	%26,8	%37,1	%17,2	%18,9	<b>%63,9</b>	<b>%36,1</b>
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)	<b>480</b>	%26,5	%37,7	%17,1	%18,8	%64,2	%35,9
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	<b>522</b>	%26,4	%38,1	%16,1	%19,3	%64,5	%35,4
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	487	%26,7	%37,6	%16,8	%18,9	%64,3	%35,7
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	521	%26,5	%38,2	%16,1	%19,2	<b>%64,7</b>	<b>%35,3</b>
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	482	%26,6	%37,6	%17,0	%18,9	%64,2	%35,9
<b>Ortalama</b>	<b>495,6</b>	<b>%26,5</b>	<b>%37,7</b>	<b>%16,7</b>	<b>%19,0</b>	<b>%64,3</b>	<b>%35,7</b>

*Carum L.* türlerine ait *trnL* intron bölgelerinin baz kompozisyon içerikleri incelendiğinde; ortalama baz uzunluğu 495,6 bp olup, en fazla baz uzunluğu *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (522 bp) türünde, en az baz uzunluğu ise *Carum carvi* (Ardahan/Çıldır) (480 bp) türünde gözlemlenmiştir. *Carum L.* türlerinin T, C, A ve G baz kompozisyonlarına ait ortalama değerlerinin ise Timin bazında %37,7; Sitozin bazında %19,0; Adenin bazında %26,5; Guanin bazında



ise %16,7 değere sahip olduğu belirlenmiştir. Adenin + Timin bazının en çok olduğu tür *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) (%64,7) iken, Adenin + Timin bazının en az olduğu tür ise *Carum carvi* (Van/Başkale) (%63,9) olmuştur. Guanin + Sitozin bazının en çok olduğu tür *Carum carvi* (Van/Başkale) (%36,1) türü iken, Guanin + Sitozin bazının en az olduğu tür ise *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) (%35,3) olarak belirlenmiştir. Ortalama değerler toplamının türlerdeki (A + T) oranı %64,3 ve (G + C) oranının ise %35,7 olduğu, *Carum L.* türlerine ait *trnL* intron bölgelerinin A-T bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

### 5.3.2. *Carum L.* Türlerine Ait *trnL* intron Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi

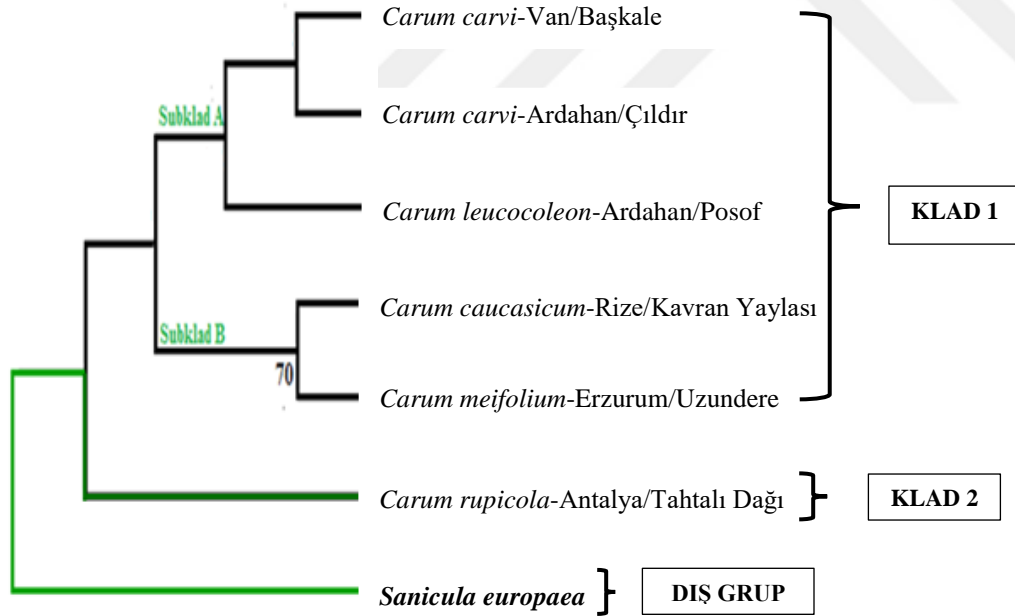
Çizelge 5.6. *Carum L.* türlerine ait *trnL* intron bölgelerinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4	5	6	7
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)							
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)	<b>0.000</b>						
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	0.003	0.003					
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.003				
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	0.003	0.003	<b>0.000</b>	0.003			
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.003	<b>0.000</b>	0.003		
<i>Sanicula europaea</i>	0.042	0.042	<b>0.045</b>	0.042	0.045	0.042	

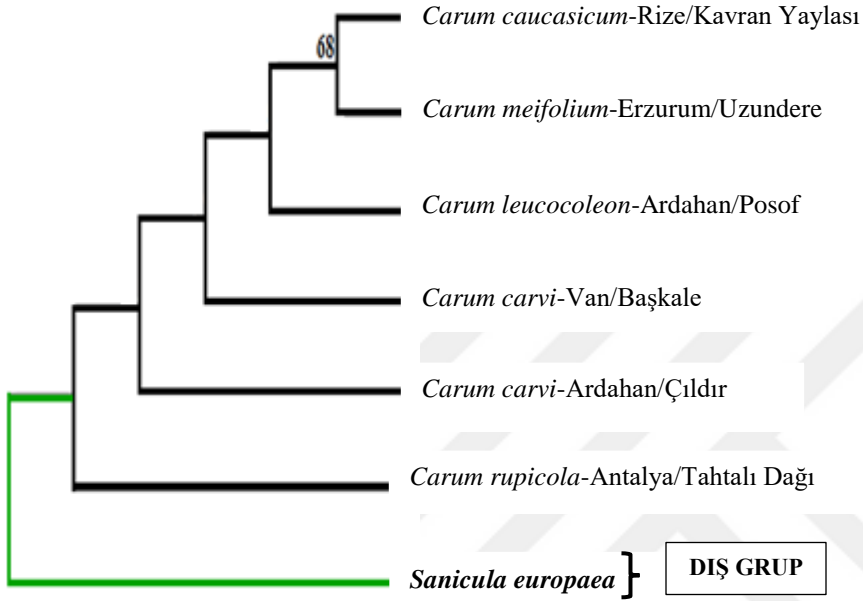
Türler arası genetik uzaklık matrisi MEGA 6.0 programı kullanılarak yapıldı. Birbirine en yakın mesafede olan türler arasındaki değer 0.000'dır. Birbirine en uzak olan türler; *Sanicula europaea* (dış grup) ile *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) ve *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) türleri arasında olup bu değer 0.045'dir.

### 5.3.3. *trnL* intron Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı

Filogenetik analizde ülkemizde 5 türle temsil edilen *Carum* cinsine ait türlerin Çizelge 3.1’de verilen lokalitelerden toplanmış olup, çalışmamızda filogenetik analizlerde kullanılmak üzere *Sanicula europaea* türü dış grup olarak seçilerek sekans dizisi NCBI’den temin edilmiştir. MEGA 6.0 programı kullanılarak karakter tabanlı metotlardan biri olan Maximum Likelihood (ML) ve kümeleme tabanlı metotlardan biri olan Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile ağaç oluşturulmuştur (Şekil 5.5) (Şekil 5.6).



Şekil 5.5. *trnL* intron bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı



Şekil 5.6. *trnL* intron bölgesinin Neighbour-Joining analizi sonucu oluşan ağacı

Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağaç (Şekil 5.5), kümeleme tabanlı Neighbor-Joining (NJ) (Şekil 5.6) ağacına göre gruplaşma sağlamıştır. Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağaç iki kladdan oluşmuştur. Klad 1 kendi içerisinde iki alt klada ayrılmıştır: Subklad A; *Carum carvi* (Van/Başkale) ve *Carum carvi* (Ardahan/Çıldır) popülasyonları ile *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) türünden meydana gelmiştir. Subklad B; *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) ve *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) türlerinden oluştuğu ve %70 oranında bootstrap değeri ile desteklendiği görülmektedir. Ayrıca *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) türünün ise ayrı bir klad olan Klad 2'yi meydana getirerek Klad 1 içerisinde yer alan diğer Türkiye *Carum* taksonları ile filogenetik olarak akraba olduğu görülmektedir.

Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining yöntemi ile oluşturulan ağaçları *trnL* intron verilerine göre kendi aralarında kıyasladığımızda Maximum Likelihood yöntemi ile elde ettiğimiz *trnL* intron ağacında gruplaşma gözlenirken (Şekil 5.5), Neighbor-Joining yöntemi ile elde ettiğimiz *trnL* intron ağacında gruplaşma gözlenmediği tespit edilmiştir (Şekil 5.6). Ayrıca Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining yöntemi ile elde ettiğimiz ITS ağaçları (Şekil 5.1) (Şekil 5.2) ile

*trnL* intron ağaçlarını (Şekil 5.5) (Şekil 5.6) kıyasladığımızda, ITS verileri sonucu oluşan her iki ağaçta da gruplaşma gözlenirken, *trnL* intron verileri ile oluşturulan ağaçta sadece Maximum Likelihood analizi sonucu oluşturduğumuz ağacın gruplaşma sağladığı belirlenmiştir. Gruplaşma sağlayan ITS ağaçları (Şekil 5.1) (Şekil 5.2) ile *trnL* intron ağacını (Şekil 5.5) kıyasladığımızda ise elde edilen ağaçların 2 kladdan meydana geldiği fakat *trnL* intron verileri ile oluşturulan ağacımızın alt kladlara ayrıldığı ve dallardaki filogenetik konumlanmalarının farklılık göstererek birbirlerini tam olarak desteklemediği gözlemlenmiştir. *trnL*-F ağaçları (Şekil 5.3) (Şekil 5.4) ile *trnL* intron ağaçlarını (Şekil 5.5) (Şekil 5.6) kıyasladığımızda, *trnL*-F verileri sonucu oluşan her iki ağacında (Şekil 5.3) (Şekil 5.4) Neighbor-Joining analizi sonucu oluşturduğumuz *trnL* intron ağacı (Şekil 5.6) ile benzer şekilde gruplaşma sağlamadığının tespiti sağlanmıştır.

#### 5.4. *rbcL* Bölgesine Ait Filogenetik Ağaçlar ve Analizi

##### 5.4.1. *Carum L.* Türlerine Ait *rbcL* Bölgelerinin Nükleotid Kompozisyon Değerleri

Çizelge 5.7. *Carum L.* türlerine ait *rbcL* bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri

Popülasyon Adı	<i>rbcL</i> (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)	546	%28,0	%26,9	%21,6	%23,4	%54,9	%45,0

Çizelge 5.7. *Carum L.* türlerine ait *rbcL* bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri (devam)

<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	545	%28,1	%26,8	%21,5	%23,7	%54,9	%45,2
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	<b>554</b>	%28,2	%26,7	%21,5	%23,6	%54,9	%45,1
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	551	%28,1	%27,0	%21,4	%23,4	<b>%55,1</b>	<b>%44,8</b>
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>541</b>	%27,5	%27,0	%21,8	%23,7	<b>%54,5</b>	<b>%45,5</b>
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	546	%28,0	%26,9	%21,6	%23,4	%54,9	%45,0
<b>Ortalama</b>	<b>547,1</b>	<b>%27,9</b>	<b>%26,8</b>	<b>%21,5</b>	<b>%23,5</b>	<b>%54,8</b>	<b>%45,1</b>

*Carum L.* türlerine ait *rbcL* bölgelerinin baz kompozisyon içerikleri incelendiğinde; ortalama baz uzunluğu 547,1 bp olup, en fazla baz uzunluğu *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) (554 bp) türünde, en az baz uzunluğu ise *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) (541 bp) türünde gözlemlenmiştir. *Carum L.* türlerinin T, C, A ve G baz kompozisyonlarına ait ortalama değerlerinin ise Timin bazında %26,8; Sitozin bazında %23,5; Adenin bazında %27,9; Guanin bazında ise %21,5 değere sahip olduğu belirlenmiştir. Adenin + Timin bazının en çok olduğu tür *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) (%55,1) türü iken, Adenin + Timin bazının en az olduğu tür ise *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) (%54,5) olmuştur. Guanin + Sitozin bazının en çok olduğu tür *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) (%45,5) türü iken, Guanin + Sitozin bazının en az olduğu tür ise *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) (%44,8) olarak belirlenmiştir. Ortalama değerler toplamının türlerdeki (A + T) oranı %54,8 ve (G + C) oranının ise %45,1 olduğu, *Carum L.* türlerine ait *rbcL* bölgelerinin A-T bakımından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

#### 5.4.2. *Carum L.* Türlerine Ait *rbcL* Bölgelerinin Genetik Uzaklık Matrisi

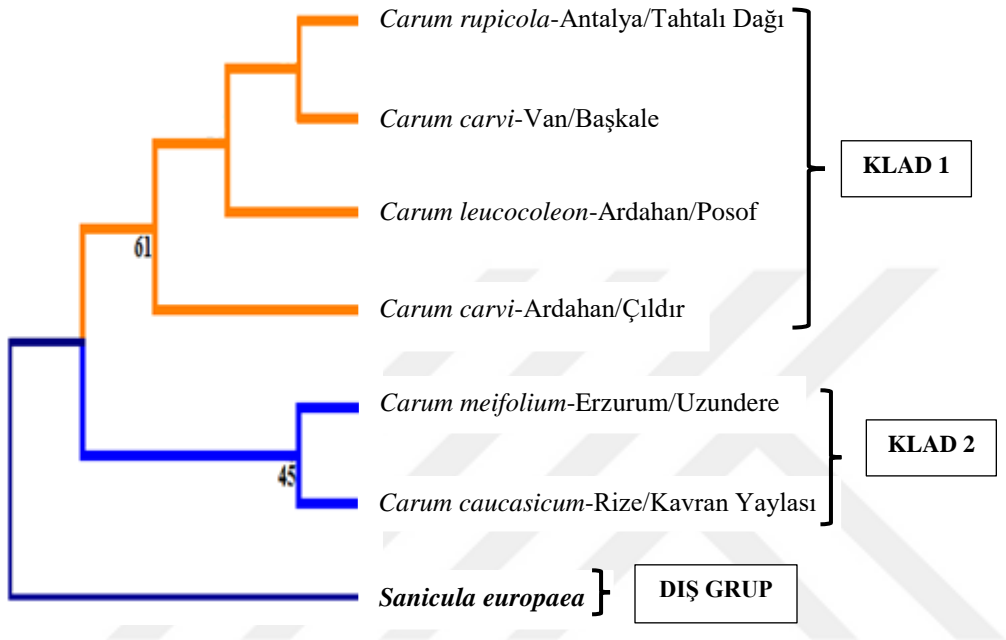
Çizelge 5.8. *Carum L.* türlerine ait *rbcL* bölgelerinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4	5	6	7
<i>Carum carvi</i> (Ardahan/Çıldır)							
<i>Carum meifolium</i> (Erzurum/Uzundere)	0.002						
<i>Carum caucasicum</i> (Rize/Kavran Yaylası)	0.002	<b>0.000</b>					
<i>Carum leucocoleon</i> (Ardahan/Posof)	<b>0.000</b>	0.002	0.002				
<i>Carum rupicola</i> (Antalya/Tahtalı Dağı)	<b>0.000</b>	0.002	0.002	<b>0.000</b>			
<i>Carum carvi</i> (Van/Başkale)	<b>0.000</b>	0.002	0.002	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>		
<i>Sanicula europaea</i>	<b>0.029</b>	0.027	0.027	<b>0.029</b>	<b>0.029</b>	<b>0.029</b>	

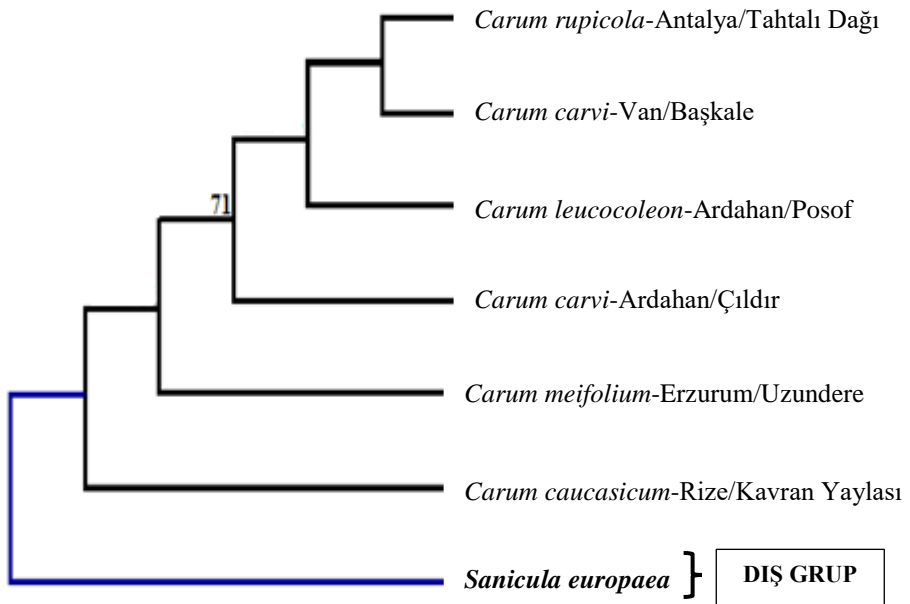
Türler arası genetik uzaklık matrisi MEGA 6.0 programı kullanılarak yapıldı. Birbirine en yakın mesafede olan türler arasındaki değer 0.000'dır. Birbirine en uzak olan türler; *Sanicula europaea* (dış grup) ile *Carum carvi* (Ardahan/Çıldır), *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof), *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı) ve *Carum carvi* (Van/Başkale) türleri arasında olup bu değer 0.029'dur.

#### 5.4.3. *rbcL* Bölgesinin Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining Analizi Sonucu Oluşan Ağacı

Filogenetik analizde ülkemizde 5 türle temsil edilen *Carum* cinsine ait türlerin Çizelge 3.1'de verilen lokalitelerden toplanmış olup, çalışmamızda filogenetik analizlerde kullanılmak üzere *Sanicula europaea* türü dış grup olarak seçilerek sekans dizisi NCBI'dan temin edilmiştir. MEGA 6.0 programı kullanılarak karakter tabanlı metotlardan biri olan Maximum Likelihood (ML) ve kümeleme tabanlı metotlardan biri olan Neighbor-Joining (NJ) yöntemi ile ağaç oluşturulmuştur (Şekil 5.7) (Şekil 5.8).



Şekil 5.7. *rbcL* bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı



Şekil 5.8. *rbcL* bölgesinin Neighbour-Joining analizi sonucu oluşan ağacı

Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağaç (Şekil 5.7), kümeleme tabanlı Neighbor-Joining (NJ) ağacına göre gruplaşma sağlandığı gözlemlenmiştir. Maximum Likelihood (ML) yöntemi ile elde ettiğimiz filogenetik ağaç iki kladdan oluşmuştur. Kladdan 1; *Carum rupicola* (Antalya/Tahtalı Dağı), *Carum carvi* (Van/Başkale), *Carum leucocoleon* (Ardahan/Posof) ve *Carum carvi* (Ardahan/Çıldır) türlerinden oluşmuştur. Kladdan 1'i meydana getiren türlerin monofiletik grup oluşturduğu ve %61 oranında bootstrap değer ile desteklendiği gözlemlenmiştir. Kladdan 2 ise, *Carum meifolium* (Erzurum/Uzundere) ve *Carum caucasicum* (Rize/Kavran Yaylası) türlerinden meydana gelerek bu türlerin monofiletik grup oluşturduğu ve filogenetik olarak %45 oranında bootstrap değer ile desteklendiği tespit edilmiştir.

Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining yöntemi ile oluşturulan ağaçları *rbcL* verilerine göre kendi aralarında kıyasladığımızda Maximum Likelihood yöntemi ile elde ettiğimiz *rbcL* ağacında gruplaşma gözlenirken (Şekil 5.7), Neighbor-Joining yöntemi ile elde ettiğimiz *rbcL* ağacında gruplaşma gözlenmediği tespit edilmiştir (Şekil 5.8). Ayrıca Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining yöntemi ile elde ettiğimiz ITS ağaçları (Şekil 5.1) (Şekil 5.2) ile *rbcL* ağaçlarını (Şekil 5.7) (Şekil 5.8) kıyasladığımızda, ITS verileri sonucu oluşan her iki ağacında (Şekil 5.1) (Şekil 5.2), Maximum Likelihood analizi sonucu elde edilen *rbcL* ağacı (Şekil 5.7) ile benzer şekilde gruplaşma sağladığının tespiti sağlanmıştır. Gruplaşma sağlayan ITS ağaçları (Şekil 5.1) (Şekil 5.2) ile *rbcL* ağacını (Şekil 5.7) kıyasladığımızda ise elde edilen ağaçların 2 kladdan meydana geldiği, Kladdan 1 ve Kladdan 2'yi oluşturan türlerin dallardaki filogenetik konumlarının benzer olup moleküler veriler doğrultusunda oluşturulan filogenetik ağaçların birbirini tam olarak destekler nitelikte olduğu tespit edilmiştir. *trnL-F* ağaçları (Şekil 5.3) (Şekil 5.4) ile *rbcL* ağaçlarını (Şekil 5.7) (Şekil 5.8) kıyasladığımızda, *trnL-F* verileri sonucu oluşan her iki ağacında (Şekil 5.3) (Şekil 5.4) Neighbor-Joining analizi sonucu oluşturduğumuz *rbcL* ağacı (Şekil 5.8) ile benzer şekilde gruplaşma sağlamadığının tespiti sağlanmıştır. Ayrıca *trnL* intron verileri sonucunda elde edilen filogenetik ağaçlar (Şekil 5.5) (Şekil 5.6) ile *rbcL* ağaçlarını (Şekil 5.7) (Şekil 5.8) kıyasladığımızda, Maximum Likelihood yöntemi ile elde ettiğimiz *trnL* intron (Şekil 5.5) ve *rbcL* ağacının (Şekil 5.7) gruplaşma sağladığı fakat Neighbor-Joining yöntemi ile elde ettiğimiz *trnL* intron (Şekil 5.6) ile *rbcL* ağacında (Şekil 5.8) gruplaşma sağlanmadığının tespiti sağlanmıştır. Gruplaşma sağlayan *trnL* intron ağacı (Şekil 5.5) ile *rbcL* ağacını (Şekil 5.7) kıyasladığımızda ise elde



edilen ağaçların 2 kladdan meydana geldiği fakat *trnL* intron verileri ile oluşturulan ağacımızın alt kladlara ayrıldığı ve dallardaki filogenetik konumlanmalarının farklılık göstererek birbirlerini tam olarak desteklemediği gözlemlenmiştir.

Zakharova vd., (2012) Apiaceae familyası içerisinde yer alan *Carum* türlerinin sistematik yerleşimini ITS dizilerine dayalı filogenetik analizini gerçekleştirmişlerdir. *Carum* taksonlarının ilişkilerini belirlemek için Apioideae alt familyası arasında geniş bir spektrum içeren türlerin aynı zamanda anatomik ve morfolojik verilerle de karşılaştırılarak filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. *Carum* türlerine ait evrimsel hatlar Maximum Parsimoni ve Maximum Likelihood ağacı yapılarak çözümlenmiştir. Oluşturulan dendogramlar yedi büyük klada ayrılmıştır fakat *Carum* türleri beş klad'a dağılarak genel sınırları ve yerleşimleri tanımlanmıştır. Maximum Parsimoni metodu ile oluşturulan ağaca göre *Carum meifolium* (M. Bieb.) Boiss., *Carum caucasicum* (M. Bieb.) Boiss., ve *Carum carvi* L. bir klad içerisinde yer alırken, *Carum rupicola* Hartvig & Strid. ise diğer *Carum* taksonları ile ayrı bir kladda yer aldığı gözlemlenmiştir. Maximum Parsimoni yöntemi ile oluşturulan ağaç ile desteklenen verilerin Maximum Likelihood ağacı içinde destekleyici olup olmadığını kontrolünü sağlamak amacıyla Maximum Likelihood ağacı oluşturulmuştur. Oluşturulan ağaçta *Carum meifolium*, *Carum carvi* ve *Carum caucasicum* bir klad içerisinde yer alırken, *Carum rupicola* ise diğer *Carum* taksonları ile ayrı bir kladda yer almış ve güçlü bootstrap değerleri ile tam ayırım sağlanmıştır. Apiaceae sistematğinde önemli olan morfolojik karakterlerden merikarp kesitleri, taç yapraklar ve yaprak salgı kanalları sayısı incelenerek türler arasında farklılıkların meydana geldiği bu farklılaşmanın türlerin yerleşim yerlerini etkileyerek *Carum* cinsinin genel sınırlarını belirlemek adına Apiaceae familyasında yer alan diğer cinsler ile karşılaştırılarak klad ve cinsler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu cinsin evriminin daha iyi anlaşılması ve türler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için daha fazla çalışma gerekliliğini vurgulamışlardır Zakharova vd., (2012)'nin yapmış olduğu çalışma neticesinde elde ettikleri ağaçlarda *Carum carvi*, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* bir klad içerisinde yer alırken, *Carum rupicola* ise diğer *Carum* taksonları ile ayrı bir kladda yer alarak Maximum Likelihood metodu ile elde ettiğimiz *trnL* intron ağacı (Şekil 5.5) verileri ile moleküler bulguların birbirlerini destekler nitelikte olduğunun bir kanıtını teşkil etmiştir. Bizim Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining analizi sonucu elde ettiğimiz

ITS ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.1) (Şekil 5.2), *Carum carvi* ve *Carum rupicola* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı bir klad içerisinde yer almıştır. Maximum Likelihood analizi sonucu elde ettiğimiz ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.7), *Carum carvi* ve *Carum rupicola* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı bir klad içerisinde yer almıştır.

Zakharova vd., (2014), Üç Apiaceae taksonu olan *Carum piovanii* Chiov., *Bunium nothum* (C.B. Clarke) P.K. Mukh. ve *Bunium kandaharicum* Rech.f. 'un sistematik konumu, morfolojik ve anatomik çalışmalarla birlikte mevcut nrITS sekans verilerine göre netleştirmişlerdir. *Carum* L. ve *Bunium* L. cinslerinin taksonomik geçmişi oldukça karmaşık olduğundan dolayı yapılan bu çalışma ile cinsler arasında daha net sınırlar getirilmesi amaçlanmıştır. ITS dizi verileri matrisi kullanılarak Maksimum Parsimony (MP) ve Bayes metodu kullanılarak filogenetik ağacı oluşturmuşlar ve Posterior olasılıkları ve bootstrap yüzdeleri ile yapılan bu moleküler çalışmayı güçlendirmişlerdir. Bayes ağacının topolojisi konsensüs ağacına göre daha az çözümlenmesine rağmen genel olarak özellikle *Carum piovanii*'nin konumu ile ilgili olarak, maksimum parsimoni analizi ile elde edilen ağaç topolojisine benzer çıkmıştır. Filogenetik analiz sonucunda, *Carum piovanii*'yi, yer altı organları, yaprakçıkların boyutu ve petal rengi gibi karpolojik benzerlikleri sebebiyle kendi türleriyle değil *Afrika peucedanoid* cinsi *Afroligusticum*'un içersine konumlandığı sonucuna ulaşmışlar ve bu verilere dayanarak *Afroligusticum piovanii*'nin yeni isimlendirme kombinasyonunu önermişlerdir. Ayrıca yapılan analiz sonucunda *Carum caucasicum*, *Carum meifolium* ve *Carum carvi* aynı klad içerisinde yer alarak çalışmamızda elde ettiğimiz popülasyonlar arası tespiti sağlanan *Carum* cinsi örneklerinin arasında önemli derecede farklılık olmadığını göstermekte ve Maximum Likelihood metodu ile elde ettiğimiz *trnL* intron ağacı (Şekil 5.5) verileri ile elde ettiğimiz moleküler bulguların bu iddaları destekler nitelikte olduğunun bir kanıtını teşkil etmektedir. Ayrıca Zakharova vd., (2014) yapmış olduğu çalışma ile bizim yapmış olduğumuz çalışmadaki diğer ağaçları kıyasladığımızda; Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining analizi sonucu elde ettiğimiz ITS ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.1) (Şekil 5.2), *Carum carvi* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı bir klad içerisinde yer almıştır. Maximum Likelihood analizi sonucu elde ettiğimiz ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.7),

*Carum carvi* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı bir klad içerisinde yer almıştır.

Lyskov vd., (2017), *Rhabdosciadium* (Apiaceae) cinsinin altı türünü moleküler filogenetik analiz ile inceleyerek, *Rhabdosciadium*'un *Aegopodium* L., *Carum* L., *Falcaria* Fabricius., *Fuernrohria* Karl. Koch., *Grammosciadium* s.s., *Gongylosciadium* Rechinger, *Hladnikia* Wilhelm Koch., *Olymposciadium* Hermann. Wolff. ve *Careae* cinsleri ile yakından ilişkili olduğu fakat yapılan bu çalışmayla her birinin taksonomik olarak konumlandırılmasını sağlamışlardır. *Rhabdosciadium* cinsi Türkiye’de yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. *Rhabdosciadium* meyvelerinin tanısız özellikleri olmadığı için (Hedge ve Lamond 1972; Hedge ve Lamond, 1987; Duran vd., 2010; Akalın ve Akpulat, 2012) örnekler tüm bilinen *Rhabdosciadium* türlerinden hem morfolojik hem de filogenetik yerleşim açısından büyük farklılıklar göstermiş ve Lyskov vd., 2017 *Rhabdosciadium* cinsinin filogenisini ve sınıflandırılmasında nrDNA’nın ITS bölgesi dizi analizi verileri kullanılarak açıklamaya çalışmışlardır. Çalışmada metod olarak Maksimum Parsimoni ve Bayesian metodu kullanılarak filogenetik ağacı oluşturmuşlardır. Posterior olasılıkları ve bootstrap yüzdeleri (BS = %100 ve PP = 0.98) ile yapılan bu moleküler çalışmanın *Rhabdosciadium*'un monofiletik bir grup olduğunu desteklemekte aynı zamanda *Rhabdosciadium*'un *Aegopodium*, *Carum*, *Falcaria*, *Fuernrohria*, *Grammosciadium*, *Gongylosciadium*, *Hladnikia* ve *Olymposciadium* ve *Careae* cinsleri ile farklı kladda yer alması, *Rhabdosciadium*'un farklı bir tür olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Ayrıca *Rhabdosciadium* cinsine ait taksonomik veriler diğer cinsler ile arasındaki ilişkiyi belirlemede etkili olmuştur. Yapılan analiz sonucunda çalışmada yer alan *Carum* L. türlerinin *Rhabdosciadium* cinsinden tamamen ayrım sağladığı tespit edilmiştir. Bu durum çalışmamızda elde edilen popülasyonlar arası *Carum* cinsi örneklerinin arasında önemli derecede farklılık olmadığını göstermekte ve elde ettiğimiz moleküler bulguların bu iddaları destekler nitelikte olduğunun bir kanıtını teşkil etmekle beraber *Carum meifolium*, *Carum caucasicum* ve *Carum carvi* aynı klad içerisinde yer alarak Maximum Likelihood metodu ile elde ettiğimiz *trnL* intron ağacı (Şekil 5.5) verilerini destekler konumdadır. Ayrıca Lyskov vd., (2017) yapmış olduğu çalışma ile bizim yapmış olduğumuz çalışmadaki diğer ağaçları kıyasladığımızda; Maximum Likelihood ve Neighbor-Joining analizi sonucu elde ettiğimiz ITS ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.1) (Şekil 5.2), *Carum carvi* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı

bir klad içerisinde yer almıştır. Maximum Likelihood analizi sonucu elde ettiğimiz ağacı verileri doğrultusunda (Şekil 5.7), *Carum carvi* türü bir klad içerisinde yer alırken, *Carum meifolium* ve *Carum caucasicum* türü ayrı bir klad içerisinde yer almıştır.

Türkiye Florasından *Carum* L. cinsi üyelerine ait sınıflandırma 1975 yılında Hedge tarafından morfolojik özelliklere dayandırılarak düzenlenmiştir. Flora'nın yazımı esnasında sınırlı zaman ve materyal ile çalışıldığından dolayı karşılaşılan olumsuzluklar neticesinde birçok cinse ait türde, hatta seksiyonlarda açıklığa kavuşturulamayan taksonomik sorunların varlığı florada belirtilmiş olsa da çözüm getirilememiştir. Bu durumda olan cinslerin problemlerinin saptanarak üzerlerinde daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerekliliği flora editörünün bazı yayınlarında da kayıt edilmiştir. Tüm bu durumlar göz önüne alındığında *Carum* L. cinsine ait taksonların filogenetik ilişkilerinin belirlenmesine ve bu cinsin türler ile ilişkisinin tekrar gözden geçirilmesine ilişkin olarak biz araştırmacıları yönlendirmiştir. Türkiye *Carum* L. cinsi ile ilgili daha önceki zamanlarda yapılmış moleküler temelli çalışmaların tespit edilememiş olması ve var olan çalışmaların da sayısının çok az olup sadece morfolojiye dayalı olması bu çalışmanın önemini daha da arttırmıştır.

Bilimsel yöntemler kullanılarak, canlıların bireysel benzerlik ve farklılıklarının geniş bir bakış açısı ile incelenmesi ve sınıflandırılması, asırlar önce başlamış ve günümüzde de devam eden bir süreç haline gelmiştir (Quicke, 1993; Çebi Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Bitkilerin sınıflandırılmasına ait çalışmalarda moleküler yöntemler, son yıllarda daha da önemli bir araç haline gelerek popülasyonlar ve türler arasındaki evrimsel ilişkilerin anlaşılmasında yeni tekniklerin geliştirilmesiyle oldukça etken rol oynamaktadır. Filogenetik bilgi açısından morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu durumlarda dizi analizleri filogenetik analizler için çok faydalı olmakta canlıların coğrafik orijinlerinin bulunmasından canlıların filogenilerini moleküler olarak ispatlamaya kadar birçok alanda kullanılmaktadır (Yokoyama vd., 2000; Allan vd., 2004; Cohen ve Weydmann, 2005; İnal ve Karaca, 2019). Bitki sistematigi çalışmalarında ve filogenetik analizlerde kullanılan DNA çeşitleri en çok kullanılan moleküler verileri oluşturmaktadır. Bu amaçla nrDNA, cpDNA ve mtDNA üzerindeki birçok özel bölgeden yararlanılmaktadır. Özellikle daha önceden bilinen ve klasik

taksonomik yöntemlerle çözüme kavuşturulamayan birçok sistematik problem, moleküler verilerden elde edilen deliller sayesinde aşılabilmektedir.

Yapmış olduğumuz bu çalışma neticesinde, Türkiye’de yayılış gösteren *Carum* cinsine ait türlerin ITS, *trnL* intron, *trnL-F* ve *rbcL* gen bölgelerinin moleküler sistematik analizi yapılarak; nükleotid kompozisyon oranları ve türler arası genetik uzaklık değerleri belirlenmiştir. Ayrıca kümeleme temelli bir algoritma olan Neighbor-Joining ve karakter temelli bir algoritma olan Maximum Likelihood ağaç topolojisini kullanarak filogenetik ilişkileri değerlendirilmiş, yapılan diğer çalışmalarla kıyas oluşturulmuş ve elde ettiğimiz bilgiler ışığında oluşturduğumuz filogenetik ağaçların çok daha güvenilir ve tutarlı sonuçlar sağladığı kanaatine vararak çalışmamızın önemi bir kez daha vurgulanmıştır.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmanın Türkiye Florasına, kültüre alınacak tarımsal üretim ve farmakoloji çalışmalarına katkı sağlaması, elde edilen sekans verilerinin Dünya Gen Bankası’na yüklenerek barkod genlerinin işlenmesi ve adımıza kayıt oluşturulması bu sayede gelecekte yapılması planlanan türler arası morfolojik, anatomik, karyolojik, palinolojik vb. çalışmalara ışık tutarak revizyon çalışmalarına temel oluşturması ve farklı biyoinformatik ve filogenetik analizlerde kullanımı için katkı sağlanması beklenmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdelgawad, G.M., 2006. Utilization of brackish and saline water in North Africa. In: **18<sup>th</sup> World Congress of Soil Science**, Philadelphia, PA, USA, 9–15.
- Abdulmanea, K., Prokudina, E.A., Lankova, P., Vanickova, L., Koblowska, R., Zeleny, V., Lapcik O. 2012. Immunochemical and HPLC identification of isoflavonoids in the Apiaceae family. **Biochemical Systematics and Ecology**, 45, 237-243.
- Ainouche, A.-K., Bayer, R.J. 1999. Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae: Papilionoideae) based on internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **American Journal of Botany**, 86(4): 590- 607.
- Akalın, E., Akpulat, A. 2012. *Rhabdosciadium urusakii* sp. nov. (Apiaceae) from east Anatolia (Turkey). **Nordic Journal of Botany**, 30(5): 560-564.
- Akalın Uruşak, E., Kızıllarslan, Ç. 2013. Fruit Anatomy of some *Ferulago* (Apiaceae) Species in Turkey. **Turkish Journal of Botany**, 37(3): 434-445.
- Akgül, F. 2014. Çanakkale (Marmara Bölgesi, Türkiye) ve Çevresindeki İç Sulardan İzole Edilen Mikroalglerin Moleküler Karakterizasyonu. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Çanakkale.
- Allan, G.J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Boerner, E., Zimmer, E.A. 2004. Molecular phylogenetic evidence for the geographic origin and classification of Canary Island *Lotus* (Fabaceae: Loteae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 32(1): 123-138.
- Alvarez, I., Wendel, J.F. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. **Molekular Phylogenetics and Evolution**, 29(3): 417–434.
- Anonim, 2020. [<http://hebaseymez.blogspot.com/2013/12/blog-post.html>], Erişim Tarihi: 05.12.2020.

- Atalay, R.Ç. 2002. ‘Neden biyoinformatik?’. **Avrasya Dosyası: Üç Aylık Uluslararası İlişkiler ve Stratejik Araştırmalar Dergisi/Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel Sayısı**, 8(3): 127-139.
- Avcı, M. 1993. Türkiye’nin flora bölgeleri ve “Anadolu Diagonali”ne coğrafi bir yaklaşım. **Türk Coğrafya Dergisi**, 28: 225-248.
- Avcı, M. 2005. Çeşitlilik ve endemizm açısından Türkiye’nin bitki örtüsü. **İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü Coğrafya Dergisi**, 13: 27-55.
- Ayanoğlu, F., Mert A., Kaya A. 1999. Hatay yöresinde halk arasında kullanılan bazı önemli tıbbi ve kokulu bitkilerin tespiti ve toplanması. **Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 4(1-2): 101-116.
- Baldwin, B. G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 1(1): 3-16.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., Donoghue, M. J. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 82 (2): 247–277.
- Baldwin, B.G., Markos, S. 1998. Phylogenetic utility of the external transcribed spacers (ETS) of 18S-26S rDNA: congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 10 (3): 449-463.
- Bakker, F.T., Culham, A., Gomez-Martinez, R., Carvalho, J., Compton, J., Dawtrey, R., Gibby, M. (2000). Patterns of nucleotide substitution in angiosperm cpDNA *trnL* (UAA)–*trnF* (GAA) regions. **Molecular Biology and Evolution**, 17(8): 1146-1155.
- Baldi, P., Brunak, S. 2001. Bioinformatics: The Machine Learning Approach, Second Edition, Massachusetts Institute of Technology: The MIT Press, Cambridge.

- Ball, M.J., Flather, M.L and Forfar, J.C. 1987. Hemlock water dropwort poisoning. **Postgraduate Medical Journal**, 63(739): 363-365.
- Başer, K., Kırimer, N. 2014. Essential oils of Anatolian Apiaceae-A profile. **Natural Volatiles and Essential Oils**, 1(1): 1-50.
- Başıbüyük, H.H., Belshaw, R., Bardakçı, F., Quicke, D.L.J. 2000. Phylogenetic Systematics: A Practical Guide to Theory and Practice. Önder Matbaa, Sivas.
- Baxevanis, A. D., Ouellette, B.F.F. 2001. Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Bayat, A. 2002. Science, medicine and the future: bioinformatics. **BMJ**, 324 :1018-1022.
- Baydar, H., Karadoğan, T. 2003. The effects of volatile oils on in vitro potato sprout growth. **Potato Research**, 46: 18.
- Baytop, T., Baytop, A., Mat., A., Sun, S. 1989. Türkiye’de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri. İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3560, Eczacılık Fak. No.54, İstanbul.
- Baytop, T. 1999. "Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)". 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 194-480, İstanbul.
- Baytop, A. 2004. Seyahatnameler (Pierre Belon (1517-1564) ve Doğu Akdeniz Gezisinin Botanik Yönü). Türkiye’de Botanik Tarihi Araştırmaları (Günergun, F., Eds.), Tübitak Yayınları, 3-13, Ankara.
- Baytop, A. 2006. Ondokuzuncu yüzyılda Anadolu’da bir bitki toplayıcısı: Eugène Bourgeau (1813-1877). **Osmanlı Bilimi Araştırmaları**, 8 (1): 97-103.
- Baytop, A., Nicolas, M. 2006. Ondokuzuncu yüzyılda Anadolu’da bir bitki toplayıcısı: Benjamin Balansa (1825-1891). **Osmanlı Bilimi Araştırmaları**, 8(1): 105-112.



- Bennett, B.C. 2010. Twenty-five economically important plant families. *Encyclopedia of Life Support Systems. Economic Cell Physiology*, 299(6), C1562-C1570, (EOLSS), Oxford (UK).
- Berenbaum, M.R. 2001. Chemical mediation of coevolution: phylogenetic evidence for Apiaceae and associates. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 88 (1), 45-59.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Aidi Wannas, W., Kchouk, M.E., Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. **Scientia Horticulturae**, 120:271-275.
- Boissier, E. 1867–1884. *Flora Orientalis*. Vols 1-5. Geneva.
- Boissier, E. 1888. *Flora Orientalis, Supplementum* (Buser, R., Eds.), 431-433, Geneva.
- Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P., Arnoldi, A. 2008. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed. **Food Chemistry**, 108: 600-606.
- Bradley, P. 2006. *British Herbal Compendium* (Bradley, P., Eds.), British Herbal Medicine Association, Vol. 2., Bournemouth.
- Bruns, T. D., White, T. J., Taylor, J. W. 1991. Fungal molecular systematic. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 22: 525-564.
- Bulut, G., Tuzlacı, E., Doğan, A., Şenkardeş, İ. 2014. An ethnopharmacological review on the Turkish Apiaceae species. **İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 44(2): 163-179.
- Büyükkılıç Altınbaşak, B. 2019. Türkiye'de Doğal Olarak Yayılış Gösteren *Daucus* L. Türlerinin Meyve Anatomisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Çağın, H.K. 2005. *Bitkilerin Gizli Dünyası IV: Maydanogiller (Apiaceae)*. Bulut Yayınları, İstanbul.

- Çebi Kılıçoğlu, M., Özkoç, İ. 2008. Fungal sistematikteki moleküler gelişmeler. **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 23(1): 65-72.
- Çelik, M. 2013. Türkiye *Laserpitium* L. (Apiaceae) Cinsinin Taksonomik Revizyonu. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Çelik Altunoğlu, Y., Ceylan, K.B., Ceylan, Y., Yerlikaya, Ş., Baloğlu, M.C. 2020. Biyolojik veri tabanları. Biyoinformatik Temelleri ve Uygulamaları (Baloğlu, M.C., Eds.), Pegem Akademi 2.Baskı, 21-43, Ankara.
- Chapman, R.G., Duval, C., (Eds.), 1982. Charles Darwin 1809-1882: A Centennial Commemorative, Nova Pacifica, New Zealand.
- Christensen, L.P., Brandt, K. 2006. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 41(3): 683-693.
- Clegg, M.T., Gaut, B. S., Learn, G. H., Morton, B. R. 1994. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 91(15): 6795- 6801.
- Cohen, B.L., Weydmann, A. 2005. Molecular evidence that phoronids are a subtaxon of brachiopods (Brachiopoda: Phoronata) and that genetic divergence of metazoan phyla began long before the early Cambrian. **Organisms Diversity & Evolution**, 5(4): 253-273.
- Constance, L. 1971. History of the classification of Umbelliferae (Apiaceae). The Biology and Chemistry of the Umbelliferae (Heywood, V.H., Eds.), Academic Press, New York.
- Crowden, R.K., Harborne, J.B, Heywood, V.H. 1969. Chemosystematics of the Umbelliferae-A general survey. **Phytochemistry**, 8(10): 1963-1984.
- Darwin, C. 1859. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. John Murray, Albemarle Street: London.

- Davis, P.H. (1965-1985). Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Vol. 1-9., Edinburgh.
- Davis, P.H., Harper, P.C., Hedge I.C. 1971. Distribution patterns in Anatolia with particular reference to endemism. In: Plant Life of South-West Asia (Davis, P.H., Harper, P.C., Hedge I.C., Eds.), The Botanical Society of Edinburgh, Aberdeen.
- Davis, P.H. 1972. Umbelliferae. Flora of Turkey and The East Aegean Islands (Davis, P.H., Eds.), Edinburgh University Press, Vol. 4., 347-349, Edinburgh.
- Davis, P.H., Hedge, I.C. 1975. The Flora of Turkey: Past, Present and Future. Candollea, Edinburgh University Press, 30, 331-351, Edinburgh.
- Davis, P.H. 1984. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Vol. 8., Edinburgh.
- Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1). Edinburgh University Press, Vol. 10., Edinburgh.
- Degreef, J., Fischer, E., Sharp, C., Raspe, O. 2009. African *Morchella crassipes* (Ascomycota, Pezizales) revealed by analysis of nrDNA ITS. **Nova Hedwigia**, 88(1/2): 11-22.
- Delipoyraz, S. 2018. Türkiye’de Yetişen *Artemisia taurica* Willd. (Asteraceae) Populasyonlarının Bazı Moleküler Belirteçler Kullanılarak Filogenetik Yönden Araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Elâzığ.
- Demirpolat, A. 2017. Türkiye’de Yetişen Bazı *Scandix* L. (Apiaceae) Türleri Üzerinde Biyosistemik Araştırmalar. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elâzığ.
- Doganca, S., Ulubelen, A., Ishikawa, T., Ishii, H. 1979. (+)-Peucedanol methyl ether from *Hippomarathrum cristatum*, Umbelliferae. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 27(4): 1049–1050.

- Doğan Güner, E. 2006. Türkiye'deki *Seseli* L. Cinsinin Revizyonu. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- 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): 563-591.
- Downie, S.R., Katz-Downie, D.S., Watson, M.F. 2000. A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA *rpl16* and *rpoC1* intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae. **American Journal of Botany**, 87(2): 273-292.
- 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**, 128(1-2): 111–136.
- Downie, S.R., Peery, R.M., Jansen, R.K. 2014. Another first for the Apiaceae: evidence for mitochondrial DNA transfer into the plastid genome. **Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University**, 44(2): 131-144.
- Doyle, J.J., Soltis, D.E., Soltis, P.S. 1985. An intergeneric hybrid in the Saxifragaceae: Evidence from ribosomal RNA genes. **American Journal of Botany**, 72(9): 1388-1391.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., Ballenger, J. A., Dickson, E.E., Kajita, T., Ohashi, H. 1997. A phylogeny of the chloroplast gene *rbcL* in the Leguminosae: Taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation. **American Journal of Botany**, 84(4): 541–554.
- Dubouzet, J.G., Shinoda, K. 1999. Phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer region of Japanese *Lilium* species. **Theoretical and Applied Genetics**, 98: 954-960.
- Dupuis, C. 1984. Willi Henning's impact on taxonomic thought. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 15: 1-25.

- Duran, A., Doğan, B., Duman, H., Martin, E., Öztürk, M., Çetin, Ö. 2010. Taxonomic studies on the genus *Rhabdosciadium* (Apiaceae) with particular reference to Turkish species and their relationships with some closely related genera. **Biologia**, 65 (3): 451–458.
- Ecevit Genç, G. 2010. Türkiye'nin Batısında ve Güneyinde Yetişen *Eryngium* L. Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, İstanbul.
- Ekim, T. 1995. Türkiye florası ve endemikleri. **Yeni Türkiye Çevre Özel Sayısı**, 1(5): 417-432.
- Essawi, T., Srour, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacol**, 70(3): 343-349.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. **Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi**, 11(1): 52-67.
- Feagan, L., Rohrer, J., Garrett, A., Amthauer, H., Komp, E., Johnson, D., Hock, A., Clark, T., Lushington, G., Minden, G., Frost, V. 2007. Bioinformatics process management: information flow via a computational journal. **Source Code for Biology and Medicine**, 2(9): 1-15.
- Felsenstein, J. 1987. Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. **Journal of Molecular Evolution**, 26(1-2): 123-131.
- Ferrara, M.A., Lacerda, P.S.B., Freitas, A., Almeida, D.S., Bon, E.P.S. 2009. Limonene bioconversion by *Yarrowia lipolytica*. **New Biotechnology**, 25: S124.
- Fitch, W.M., Margoliash, E. 1967. Construction of phylogenetic trees. **Science**, 155(3760): 279–284.
- Fox, G.E., Magrum, L.J., Balch, W.E., Wolfe, R.S., Woese, C.R. 1977a. Classification of methanogenic bacteria by 16S ribosomal RNA characterization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 74(10): 4537-4541.

- Fox, G.E., Pechman, K.R., Woese, C.R. 1977b. Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: Molecular approach to procaryotic systematics. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 27(1):44-57.
- Freeman, S., Herron, J.C. 1999. Evrimsel Analiz. (Çıplak, B., Karaytuğ, S., Başbüyük H.H., Gündüz, İ., Eds.), Palme Yayıncılık, 28-29: 438-708, Ankara.
- Freeman, J.L., Tamaoki, M., Stushnoff, C, Quinn, C.F., Cappa, J.J., Devonshire, J., Fakra, S.C., Marcus, M.A., McGrath, S.P., Van Hoewyk, D., Pilon-Smits, E.A.H. 2010. Molecular Mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*. **Plant Physiology**, 153(4): 1630-1652.
- French, D.H. 1971. Ethnobotany of the Umbelliferae. In: The Biology and Chemistry of the Umbelliferae (Heywood, V.H., Eds.), Academic Press, 383-412, London.
- Frey, J.E., Müller-Scharer, H., Frey, B., Frei, D. 1999. Complex relation between triazine-susceptible phenotype and genotype in the weed *Senecio vulgaris* may be caused by chloroplast DNA polymorphism. **Theoretical and Applied Genetics**, 99(3-4): 578-586.
- Gardes, M., Bruns, T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology**, 2(2): 113-118.
- Gernandt, D.S., Liston, A. 1999. Internal transcribed spacer region evolution in *Larix* and *Pseudotsuga* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, 86(5): 711-723.
- Ghahremaninejad, F., Hoseini, E., Mozaffarian, V. 2014. Fruit Anatomy of the genus *Bupleurum* L. (Apiaceae) in Iran. **The Iranian Journal of Botany**, 20(1): 51-70.
- Gielly, L., Taberlet, P. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: Noncoding versus *rbcL* sequences. **Molecular Biology and Evolution**, 11(5): 769-777.

- Gielly, L., Taberlet, P. 1996. A phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 120(1): 57-75.
- Gören, G. 2011. Türkiye'de Yetişen *Sideritis* L. (Lamiaceae) cinsinin *Hesiodia* ve *Burgsdorfia* Seksiyonlarının ITS nrDNA ile *trnL*-F ve *ndhF* cpDNA Dizileriyle Moleküler Sistematik Analizi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Graham, S.W., Olmstead, R.G. 2000. Utility of 17 Chloroplast genes for inferring the phylogeny of the basal angiosperms. **American Journal Of Botany**, 87(11): 1712-1730.
- Gu, G., Deutch, A.Y., Franklin, J., Levy, S., Wallace, D.C., Zhang, J. 2003. Profiling genes related to mitochondrial function in mice treated with N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 308(1): 197-205.
- Gülbitti Onarıcı, S., Sümer S. 2003. Protein and DNA in systematic biology. **Turkish Journal of Biology**, 27(1): 47-55.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (Eds.), 2000. Flora of Turkey and the East Eagean Islands (Supplement 2) Vol. XI., Edinburgh University Press., Edinburgh.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., (Eds.), 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Haeckel, E. 1866. Generella Morphologie der Organismen. Allgemeine Grundzüge der organischen Formen. Wissenschaft, mechanisch begründet durch die von Charles Darwin reformirte Descendenz-Theorie. Verlag Von Georg Reimer Publisher, Berlin.
- Haeckel, E. 1879. The Evolution of Man: A Popular Exposition of the Principal Points of Human Ontogeny. Vol. 2., D. Appleton & Company Publishers, 188, New York.

- Hall, T.A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, 41: 95-98.
- Hamrouni, I., Ben Salah, H., Marzouk, B. 2001. Effects of water-deficit on lipids of safflower aerial parts. **Phytochemistry**, 58: 277-280.
- Harris, G.C., Cheesbrough, J.K., Walker, D.A. 1983. Measurement of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O vapor exchange in spinach leaf discs: Effects of orthophosphate. **Plant Physiology**, 71(1): 102-107.
- Hartmans, K.J., Diepenhorst, P., Bakker, W., Gorris, L.G.M. 1995. The use of carvone in agriculture: Sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. **Industrial Crops and Products**, 4(1), 3-13.
- Hedge, I.C., Lamond, J.M. 1972. *Rhabdosciadium* Boiss. In: Flora of Turkey and the east Aegean Islands, Vol. 4., (Davis, P.H. Eds.), Edinburgh University Press, 311, Edinburgh.
- Hedge, I.C. 1973. Umbelliferae in 1672 and 1973. Notes Royal Botanic Garden, Edinburgh, 32: 151-158.
- Hedge I.C., Lamond J.M. 1987. Tribus Scandiceae. In: Umbelliferae, Flora Iranica, Vol. 162., (Rechinger K.H. Eds.), Akademische Druck und Verlagsanstalt, 83–110, Graz, Austria.
- Hema, R., Kumaravel, S., Alagusundaram, K. 2011. GC/MS Determination of bioactive components of *Murraya koenigii*, **Journal of American Science**, 7(1): 80-83.
- Hershkovitz, M.A., Lewis, L. A. 1996. Deep-level diagnostic value of the rDNA-ITS region. **Molecular Biology and Evolution**, 13(9): 1276-1295.
- Heywood, V.H. 1971. Biology and Chemistry of the Umbelliferae. Academic Press, London.



- Heywood, V.H., Brummitt, R. K., Culham, A., Seberg, O. 2007. Flowering Plant Families Of The World. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Heywood, V.H. 2014. The socio-economic importance of the Apiales. **Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University**, 44(2): 113-130.
- Hickey, M., King, C. 1997. Common Families of Flowering Plants. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Iacobellis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F., Senatore, F. 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(1): 57–61.
- Ivanova, N.V., Depriest, P.T., Bobrova, V.K., Troitsky, A.V. 1999. Phylogenetic analysis of the Lichen family Umbilicariaceae based on nuclear ITS1 and ITS2 rDNA sequences. **The Lichenologist**, 31(5): 477-489.
- İnal, B., Karaca, M. 2019. MatK ve *trnH-psbA* barkot genleri kullanılarak bazı bitki taksonlarının moleküler olarak sınıflandırılması. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, 6(1): 87-93.
- Ji, S.-G., Hou, K.-K., Wang, J., Pan, S.-L. 2008. A molecular phylogenetic study of Huperziaceae based on chloroplast *rbcL* and *psbA-trnH* sequences. **Journal of Systematics and Evolution**, 46(2): 213–219.
- Jia, S.-B., Guo, X.-L., Xie, D.-F., Yu, Y., Zhou, S.-D., He, X.-J. 2019. The complete chloroplast genome of *Haplosphaera phaea* (Apiaceae). **Mitochondrial DNA Part B**, 4(1): 1969-1970.
- Jorgensen, R.A., Cluster, P.D. 1988. Modes and tempos in the evolution of nuclear ribosomal DNA: new characters for evolutionary studies and new markers for genetic and population studies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 75(4): 1238-1247.
- Kalmer A., Dizkırıncı-Tekpınar, A. 2017. *Centaurea* cinsine ait beş türün *trnT-L-F* cpDNA bölgesi kullanılarak filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi. **Cumhuriyet Science Journal**, 38(4):52-59.

- Karakaya, M.A., 2018. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Grammosciadium* DC. (Apiaceae) Cinsine Ait Taksonların Anatomik Özellikleri. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu.
- Kartavtsev, Y.P., Jung, S.-O., Lee, Y.-M., Byeon, H.-K., Lee, J.-S. 2007. Complete mitochondrial genome of the bullhead torrent catfish, *Liobagrus obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): genome description and phylogenetic considerations inferred from the Cyt *b* and 16S rRNA genes. **Gene**, 396(1): 13-27.
- Kaya, H.B., Soya, S., Akkale, C., Tanyolaç, B. 2010. Biyoteknoloji ve biyoinformatik. Moleküler Biyoloji (Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., Eds.), Nobel Akademik Yayıncılık, 630-653, Ankara.
- Katz-Downie, D.S., Valiejo-Roman, C.M., Terentieva, E.I., Troitsky, A.V., Pimenov, M.G., Lee, B., Downie, S.R. 1999. Towards a molecular phylogeny of Apiaceae subfamily Apioideae: additional information from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. **Plant Systematics and Evolution**, 216: 167-195.
- Kendir, G., Güvenç, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 30(1): 49-80.
- Kerstholt, R.P.V., Ree, C.M., Moll, H.C. 1997. Environmental life cycle analysis of potato sprout inhibitors. **Industrial Crops and Products**, 6 (3-4): 187-194.
- Keskin, M. 2019. DNA Dizisi Tabanlı Olarak *Raphidascaris Acus*’un Moleküler Tanımlaması. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyon.
- Khajepiri, M., Ghahremaninejad, F., Mozaffarian, V. 2010. Fruit anatomy of the genus *Pimpinella* L. (Apiaceae) in Iran. **Flora**, 205(5): 344-356.
- Khan, M., Sastry, V. 2009. Antibacterial activity of carvone containing essential oils. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, 2: 126-127.

- Kızılarlan Hançer, Ç. 2016. Halk Arasında Kullanımı Olan ve Trakya'da Yetişen Apiaceae Familyası Üyeleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Kress, W.J., Erickson, D.L. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. **PLoS ONE**, 2(6): e508.
- Kundakçı, S. 2017. Türkiye *Epilobium* L.ve *Chamerion* (Rafinesque) Rafinesque ex Holub (Onagraceae) Taksonlarının nrDNA ITS Dizilerine Dayalı Akrabalık İlişkileri. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Rize.
- Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A., Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. **Industrial Crops and Products**, 30: 372-379.
- Lee, S.-B., Taylor, J.W. 1992. Phylogeny of five fungus-like protocistan *Phytophthora* species, Inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. **Molecular Biology and Evolution**, 9 (4): 636-653.
- Lee, S.-B., Rasmussen, S.K. 2000. Molecular markers in some medicinal plants of the Apiaceae Family. **Euphytica**, 114: 87-91.
- Levin, R.A., Wagner, W.L., Hoch, P.C., Nepokroeff. M., Pires, J.C., Zimmer, E.A., Stysma, K.J. 2003. Family-level relationships of Onagraceae based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* data. **American Journal of Botany**, 90(1): 107-115.
- Linnaeus, C. 1753. Species plantarum, Vol. 1. Holmiae: [Stockholm]: Impensis Laurentii Salvii.
- Lipscomb, D. 1998. Basics of Cladistic Analysis. George Washington University, Washington D.C.

- Liu, J.-S., Schardl, C.L. 1994. A conserved sequence in the internal transcribed spacer 1 of plant nuclear rRNA genes. **Plant Molecular Biology**, 26: 775-778.
- Liu, M., Shi, L., Van Wyk, B.-E., Tilney, P.M. 2003a. Fruit anatomy of the genus *Bupleurum* (Apiaceae) in northeastern China and notes on systematic implications. **South African Journal of Botany**, 69(2): 151– 157.
- Liu, M., Van Wyk, B.-E., Tilney, P.M. 2003b. The taxonomic value of fruit structure in the subfamily Saniculoideae and related African genera (Apiaceae). **Taxon**, 52(2): 261-270.
- Liu, Q., Ge, S., Tang, H., Zhang, X., Zhu, G., Lu, B.-R. 2006. Phylogenetic relationships in *Elymus* (Poaceae: Triticeae) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences. **New Phytologist**, 170: 411-420.
- Luscombe, N.M., Greenbaum, D., Gerstein, M. 2001. What is bioinformatics? An introduction and overview. **Yearbook of Medical Informatics**, 10(1): 83-100.
- Lyskov, D., Kljuykov, E., Doğan-Güner, E., Samigullin, T. 2017. Molecular phylogeny of the genus *Rhabdosciadium* (Apiaceae) with description of a new species *R. anatolyi* from Hakkâri province, eastern Turkey. **Phytotaxa**, 331(2): 253-262.
- Mathias, M.E. 1965. Distribution patterns of certain Umbelliferae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 52(3): 387-398.
- Meikle, R.D. 1977. Flora of Cyprus, Vol. 1. The Bentham-Moxon Trust Royal Botanic Gardens, Kew.
- Menglan, S., Fading, P., Zehui, P., Watson, M.F., Cannon J.F.M., Holmes-Smith, I., Kljuykov, E.V., Phillippe, L.R., Pimenov, M.G. 2005. Apiaceae (Umbelliferae). Flora of China, Vol. 14: Apiaceae through Ericaceae (Wu, Z. Y., Raven, P.H., Hong, D.Y., Eds.), Missouri Botanical Garden Press, 1-205, St. Louis.

- Morison, R. 1672. *Plantarum Umbelliferarum Distributio Nova. e Theatro Sheldoniano, Oxonii.*
- Morrison, D.A. 1996. Phylogenetic tree-building. **International Journal for Parasitology**, 26(6): 589–617.
- Mount, D.W. 2001. Alignment of pairs of sequences (Chapter 3). *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis* (Mount, D.W., Eds.), Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 52-137, New York.
- Nei, M., Kumar, S., Takahashi K. 1998. The optimization principle in phylogenetic analysis tends to give incorrect topologies when the number of nucleotides or amino acids used is small. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 95(21): 12390–12397.
- Ngahang Kamte, S.L., Ranjbarian, F., Cianfaglione, K., Sut, S., Dall'Acqua, S., Bruno, M., Afshar, F.H., Iannarelli, R., Benelli, G., Cappellacci, L., Hofer, A., Maggi, F., Petrelli, R. 2018. Identification of highly effective antitrypanosomal compounds in essential oils from the Apiaceae family. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 156: 154-165.
- Nickhavar, B., Abolhasani, F. Al-S. 2009. Screening of antioksidant properties of seven Umbelliferae fruits from Iran. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 22(1): 30-35.
- Olmstead, R.G. Palmer, J.D. 1994. Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data Analysis. **American Journal of Botany**, 81(9): 1205-1224.
- Özakman, G. 2018. Selenyumun *Chlorella vulgaris rbcL* ve *psaB* Genlerinin Ekspresyon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri. Üsküdar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Özcan, S., Gürel, E., Baboğlu, M. 2001. DNA'nın moleküler yapısı ve kromozomlar. *Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Özcan S, Gürel E, Babaoğlu M., Eds.), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 30, Konya.

- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H. 2001. Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam (Gıda ve Tedavi), 4Renk Yayınları, Ankara.
- Özhatay, N., Kültür Ş. 2006. Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey III. **Turkish Journal of Botany**, 30(4): 281-316.
- Özhatay, N., Akalın, E., Özhatay, E. ve Ünlü, S. 2008-2009. Rare and endemic taxa of Apiaceae in Turkey and their conservation significance. **Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University**, 40: 1-9.
- Özhatay, N., Kültür, Ş., Aslan, S. 2009. Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey IV. **Turkish Journal of Botany**, 33(3): 191-226.
- Özhatay, F.N., Kültür, Ş., Gürdal, M.B. 2011. Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey V. **Turkish Journal of Botany**, 35: 589-624.
- Pandey, M.M., Vijayakumar, M., Rastogi, S., Rawat, A.K.S. 2012. Phenolic content and antioxidant properties of selected Indian spices of Apiaceae. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, 18(3): 246-256.
- Papini, A., Banci, F., Nardi, E. 2007. Molecular evidence of polyphyletism in the plant genus *Carum* L. (Apiaceae). **Genetics and Molecular Biology**, 30(2): 475-482.
- Picard, M., Wallace, D.C., Burelle, Y. 2016. The rise of mitochondria in medicine. **Mitochondrion**, 30: 105-116.
- Pillay, M., Mazzella, C. 1997. Chloroplast genome differences between *Paspalum dilatatum* Poir and the related species *P. notatum* Flugge. **Theoretical and Applied Genetics**, 95: 696-701.
- Pimenov, M.G., Leonov, M.V. 1993. The Genera of the Umbelliferae: A Nomenclature. Royal Botanic Gardens, Kew and Botanical Garden of Moscow University, Russia.

- 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(1-2): 139-145.
- Plunkett, G.M., Soltis, D.E., Soltis, P.S. 1996. Evolutionary patterns in Apiaceae: inferences based on *matK* sequence data. **Systematic Botany**, 21 (4): 477-495.
- Polat, M., Karahan, A.G. 2009. Multidisipliner yeni bir bilim dalı: biyoinformatik ve tıpta uygulamaları. **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 16(3): 41-50.
- Portis, A.R. 1992. Regulation of Ribulose 1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase activity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 43(1): 415–437.
- Qui, Y.L., Lee, J., Bernasconi-Quadroni, F., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Zanis, M., Zimmer, E.A., Chen, Z.D., Savolainen, V., Chase, M.W. 1999. The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes, **Nature**, 402: 404-407.
- Quicke, D.L.J. 1993. Principles and Techniques of Contemporary Taxonomy. Blackie Academic and Professional, London.
- Raal, A., Arak, E., Orav, A. 2012. The content and composition of the essential oil Found in *Carum carvi* L. commercial fruits obtained from different countries. **Journal of Essential Oil Research**, 24(1): 53–59.
- Rabei, S. 2011. A Morphological, Anatomical and Taxonomic Study of Umbelliferae in Egypt. Lap Lambert Academic Publishing, Köln.
- Rashidi, H.H., Buehler, L.K. 2000. Bioinformatics Basics: Applications in Biological Science and Medicine. CRC pres, Boca Raton, Florida.
- Rodgers, S.O., Bendich, A.J. 1987. Ribosomal RNA genes in plants: variability in copy number and in intergenic spacer. **Plant Molecular Biology**, 9(5): 509-520.

- Saenz Lain, C. 1981. Research on *Daucus* L. (Umbelliferae). **Anales Jardín Botánico De Madrid**, 37: 481-533.
- Saitou, N., Nei, M. 1987. The Neighbor-Joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, 4(4): 406-425.
- Saitou, N., İmanishi, T. 1989. Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, Maximum Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution and Neighbour-Joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. **Molecular Biology and Evolution**, 6(5): 514-525.
- Saleh, N.A.M., El-Negoumy, S.I., El-Hadidi, M.N., Hosni, H.A. 1983. Comparative study of the flavonoids of some local members of the Umbelliferae. **Phytochemistry**, 22(6), 1417-1420.
- Sancar, P.Y. 2017. Türkiye’de Yetişen *Anthriscus* Pers. (Apiaceae) Türlerinin Genetik Yapısının ve Filogenetik Akrabalık İlişkilerinin Kloroplast Genomunun Kodlanmayan “trn” Bölgelerine Göre Araştırılması, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.
- Sarıçam, S., Müştak, H.K. 2015. Filogenetik ağaçlandırma metotları. **Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi**, 26(2): 58-64.
- Schlessman, M.A. 1984. Systematics of tuberous Iomatiums (Umbelliferae). Systematic Botany Monographs, Vol. 4. (Schlessman, M.A., Eds.), American Society of Plant Taxonomists, 1-55, New York.
- Schmitz, U. K. 1988. Molecular analysis of mitochondrial DNA and its inheritance in *Epilobium*. **Current Genetics**, 13: 411-415.
- Sevindik, E. 2018. Genome-wide identification and analysis of RuBisCO large subunit proteins in *Morus* L. (Moraceae) species. **Genetika**, 50(2): 603-616.
- Shaw, A. J. 2000. Phylogeny of the Sphagnopsida based on chloroplast and nuclear DNA sequences. **The Bryologist**, 103(2): 277-306.



- Shaw, J., Lickey, E.B., Beck, J.T., Farmer, S.B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K.C., Winder, C.T., Schilling, E.E., Small, R.L. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. **American Journal of Botany**, 92(1): 142–166.
- Singh, G.B. 2015. Part IV: Phylogenetics and systems biology. *Fundamentals of Bioinformatics and Computational Biology: Methods and Exercises in MATLAB* (Patnaik, S., Sethi, I.K., Li, X., Eds.), Springer International Publishing, 235-286, Switzerland.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nicrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Sweere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.-M., Gillespie, L.J., Kress, W.J., Sytsma, K.J. 1997. Angiosperm phylogeny inferred from 18S ribosomal DNA sequences. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 84(1): 1-49.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Doyle, J.J. 1998. Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. *Molecular Systematics of Plants II: DNA sequencing* (Soltis, D. E., Soltis, P. S., Doyle, J.J. Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1-42, New York.
- Su, B., Wang, Y.-X., Lan, H., Wang, W., Zhang, Y. 1999. Phylogenetic study of complete cytochrome *b* genes in musk deer (genus *Moschus*) using museum samples. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 12(3): 241-249.
- Subramani, B., Hwa, K.-Y. 2010. In silico Analysis for enhancing the RuBisCO activity among the C<sub>3</sub> plants of Poaceae family. **Information Technology Convergence and Services (ITCS)**, 2nd International Conference on, 1-6. IEEE.
- Sugiura, M. 1995. The chloroplast genome. **Essays in Biochemistry**, 30: 49-57.
- Şanlı, A., Karadoğan, T., Tonguç, M., Baydar, H. 2010. Effects of caraway (*Carum carvi* L.) seed on sprouting of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers under different temperature conditions. **Turkish Journal of Field Crops**, 15(1): 54-58.

- Şenkul, Ç., Kaya, S. 2017. Türkiye endemik bitkilerinin coğrafi dağılışı. **Türk Coğrafya Dergisi**, 69:109-120.
- Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G., Bouvet, J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, 17(5): 1105-1109.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermat, T., Corthier, G., Brochmann, C., Willerslev, E. 2007. Power and limitations of the chloroplast *trnL* (UAA) intron for plant DNA barcoding. **Nucleic Acids Research**, 35(3):1-8.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, 30(12): 2725-2729.
- Tez, C. 2011. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Sideritis* L. (Lamiaceae) Cinsinin *Empedoclia* Seksiyonuna Ait Taksonların ITS Çekirdek Ribozomal DNA Dizilerine Dayalı Filogenetik Analizi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Torlak, H., Vural, M., Aytaç, Z. 2010. Türkiye’nin Endemik Bitkileri, T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları, Ankara.
- Tosun, B. 2015. *Seseli* L. (Apiaceae) Cinsinin Moleküler Filogenisi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Toxopeus, H., Bouwmeester, H. J. 1992. Improvement of caraway essential oil and carvone production in The Netherlands. **Industrial Crops and Products**, 1: 295–301.
- Tuncay, H.O., Yeşil, Y. 2019. Comparative fruit anatomy and morphology of four species known as Cumin (kimyon) in Turkey. **Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi**, 22(4): 547-556.

- Tutin, T. G. 1968. Rosaceae to Umbelliferae. Flora Europaea, Vol. 2., (Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., Eds.), Cambridge University Press, 315-375, Cambridge.
- TÜBİVES, 2020. [<https://www.tubives.com/>], Erişim Tarihi: 09.07.2020.
- Van Wyk, B.-E., Tilney, P.M., Magee, A.R. 2013. African Apiaceae: A Synopsis of the Apiaceae / Umbelliferae of Sub-Saharan Africa and Madagascar. Briza Publications, Pretoria.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, 218: 1-14.
- Watson, M.F., Plunkett, G.M., Downie, S.R., Lowry, P.P. 2001. Evolution, biogeography and systematics of the Apiales (Araliaceae and Apiaceae). **Edinburgh Journal of Botany**, 58(2): 179-181.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., Eds.), Academic Press, 315-322, San Diego.
- Win, N.-N., Hanyuda, T., Arai, S., Uchimura, M., Abbott, I.A., Kawai, H. 2008. Three new records of *Padina* in Japan based on morphological and molecular markers. **Phycological Research**, 56: 288-300.
- Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J., Fox, G.E. 1985. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. **Systematic and Applied Microbiology**, 6(2): 143-151.
- Wolstenholme, D.R., Fauron, C.M.R. 1995. Mitochondrial genome organization. In: The Molecular Biology of Plant Mitochondria, (Levings, C.S., Vasil, I.K., Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1-60, Dordrecht.

- Wongsawad, P., Peerapornpisal, Y. 2014. Molecular identification and phylogenetic relationship of green algae, *Spirogyra ellipsospora* (Chlorophyta) using ISSR and *rbcL* markers. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 21(5): 505-510.
- Wörz, A., Diekmann, H., 2010. Classification and evolution of the genus *Eryngium* L. (Apiaceae-Saniculoideae): Results of fruit anatomical and petal morphological studies. **Plant Diversity and Evolution**, 128(3-4): 387-408.
- Xiong, J. 2006. Molecular Phylogenetics. Essential Bioinformatics (Xiong, J., Eds.), Cambridge University Press, 127-169, New York.
- Xu, D.H., Abe, J., Sakai, M., Kanazawa, A., Shimamoto, Y. 2000. Sequence variation of non-coding regions of chloroplast DNA of soybean and related wild species and its implications for the evolution of different chloroplast haplotypes, **Theoretical and Applied Genetics**, 101: 724-732.
- Yang, J.Y., Pak, J.-H. 2006. Phylogeny of Korean *Rubus* (Rosaceae) based on ITS (nrDNA) and *trnL/F* intergenic region (cpDNA). **Journal of Plant Biology**, 49(1): 44-54.
- Ye, L.-S., Zhang, Q., Pan, H., Huang, C., Yang, Z.-N., & Yu, Q.-B. 2017. EMB2738, which encodes a putative plastid-targeted GTP-binding protein, is essential for embryogenesis and chloroplast development in higher plants. **Physiologia Plantarum**. 161(3): 414-430.
- Yembaturova, E.Y., Van Wyk, B.-E., Tilney, P.M., Winter, P.J.D. 2010. The taxonomic significance of fruit morphology and anatomy in the genus *Alepidea* Delaroché (Apiaceae, subfamily Saniculoideae). **Plant Diversity and Evolution**, 128(3-4): 369-385.
- Yıldırım, A., Kandemir, N. 2001. Genetik markörler ve analiz metodları. Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları (Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., Eds.), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 334-363, Konya.

- Yıldırım, H., Duman, H. 2017. *Peucedanum guvenianum* (Apiaceae), a new species from West Anatolia, Turkey. **Turkish Journal of Botany**, 41: 600-608.
- Yıldırım, Ş. 2015. Bitki Sözlüğü. Ofset Fotomat Matbaacılık, 336-631, Ankara.
- Yıldız, B., Aktoklu, E. 2012. Magnoliophyta (angiospermae=kapalı tohumlu bitkiler). Bitki Sistematigi: İlkın Karasal Bitkilerden Bir Çeneklilere (Yıldız, B., Aktoklu, E., Eds.), Palme Yayıncılık, 297-298, Ankara.
- Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K., Hasebe, M. 2000. Molecular phylogeny of Coriaria, with special emphasis on the disjunct distribution. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 14(1): 11-19.
- Yu, H.S., Hwang, M.Y., Kim, T.O., Yun, H.C., Kim, T.H., Kong, H.H., Chung, D.I., 1999. Phylogenetic relationships among *Acanthamoeba* spp. based on PCR- RFLP analyses of mitochondrial small subunit rRNA gene. **The Korean Journal of Parasitology**, 37(3): 181-188.
- Zakharova, E.A. 2010. Morphological evidence of polyphyletic nature of traditional *Carum* (Apiaceae — Apioideae). **Plant Diversity and Evolution**, 128(3/4): 409-421.
- Zakharova, E.A., Degtjareva G.V., Pimenov M.G. 2012. Redefined generic limits of *Carum* (Umbelliferae, Apioideae) and new systematic placement of some of its taxa. **Willdenowia**, 42(2): 149-168.
- Zakharova, E.A., Degtjareva, G.V., Kljuykov, E.V., Tilney, P.M. 2014. The taxonomic affinity of *Carum piovanii* Chiov. and some *Bunium* species (Apiaceae). **South African Journal of Botany**, 94: 122-128.
- Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Paksoy, M.Y., Picot-Allain, C., Glamocilja, J., Sokovic, M., Diuzheva, A., Jekó, J., Cziáky, Z., Rodrigues, M. J., Sinan, K. I., Custodio, L. 2019. Phytochemical characterization and bioactivities of five Apiaceae species: Natural sources for novel ingredients. **Industrial Crops and Products**, 135: 107–121.

Zhang, D., Sang, T. 1999. Physical mapping of ribosomal RNA genes in peonies (*Paeonia*, *Paeoniaceae*) by fluorescent in situ hybridization: Implications for phylogeny and concerted evolution. **American Journal of Botany**, 86(5): 735-740.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Feyzanur TOPSEÇER

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : 2014/2018 Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Mühendisliği

Yüksek Lisans Öğrenimi : Devam Ediyor

Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- Sevindik, E., Paksoy, M.Y., Topseçer, F., Aydoğan, M. 2019. Phylogenetic Analysis of *Chrysochamela* (Fenzl) Boiss. (Brassicaceae) Taxa Growing in Turkey. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, 7(12): 2129-2132.

- Sevindik, E., Paksoy, M.Y., Aydoğan, M., Topseçer, F. 2020. Genetic variation and molecular relationships taxa of *Conringia* Heist. ex Fabr. (Brassicaceae) based on RAPD markers in Turkey. **Genetika**, 52(1):107-114.

Tarih : 30/03/2021