

T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
2022-YL-050

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *BORNMUELLERA*  
*HAUSSKN.* (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN KLOROPLAST  
DNA (CPDNA) *TRNL*-INTRON, *TRNL*-F, *TRNQ-RPS16*, *RBCL*  
BÖLGELERİNE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ

Kemalcan OKAN

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Emre SEVİNDİK

AYDIN  
2022

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı öğrencisi Kemalcan OKAN tarafından hazırlanan “TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *BORNMUELLERA* HAUSSKN. (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN KLOROPLAST DNA (CPDNA) *TRML*-INTRON, *TRML*-F, *TRNQ-RPS16*, *RBCL* BÖLGELERINE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Üye : Prof. Dr. E. Mennan YILDIRIM- Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye (T.D.) : Doç. Dr. Emre SEVİNDİK- Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Dudu DEMİR-Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

ONAY:

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

Prof. Dr. Gönül AYDIN

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu alıŐma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi (Proje No; ZRF-21006) tarafından desteklenmiştir.

Beni akademisyenliğe teŐvik eden hayatta her alanda her anlamda desteğini esirgemeyen kendisini kendime örnek aldığım tüm çalıŐmalarımın ve baŐarılarımın mimarı tez danıŐmanım Sayın Doç. Dr. Emre SEVİNDİK'e;

*Bornmuellera* türlerinin araziden toplanmasını sağlayan ve teŐhislerini gerçekleŐtiren Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümünden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY;

İlkokuldan Tez alıŐma sürecine kadar maddi ve manevi her türlü desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima arkamda olan ve bana olan güvenlerini hep hissettiğim beni hayata karşı motive eden her düŐtüĐümde daha güçlü kalkmamı sağlayan sevgili babam Muharrem OKAN'a, annem Süreyya OKAN'a, ablam Nehir UMUTLU ve eŐi Serkan UMUTLU, Anıl Salih OKAN'a ve Merve KarakaŐ'a kalpten sonsuz teŐekkürlerimi sunar hep yanımda olmalarını dilerim.

Kemalcan OKAN

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dünya’da ve Türkiye’de Brassicaceae Familyası ve Özellikleri.....	1
1.2. Brassicaceae Familyasının Farmakolojik ve Ekonomik Önemi.....	2
1.3. <i>Bornmuellera</i> Hausskn. Türünün Genel Özellikleri.....	4
1.4. Moleküler Sistematiği.....	5
1.5. Kloroplast DNA (cpDNA).....	5
1.5.1. <i>trnL-F</i> ve <i>trnL</i> intron Bölgesi .....	7
1.5.2. <i>trnQ-rps</i> 16 Bölgesi .....	8
1.5.3. <i>rbcL</i> gen Bölgesi.....	8
1.6. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç .....	9
1.6.1. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metodları .....	9
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18

3.1. Materyal .....	18
3.1.1. Çalışmada Kullanılan <i>Bornmuellera</i> Türleri .....	18
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar .....	20
3.1.2.1. Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar .....	20
3.1.2.2. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar .....	20
3.1.3. PCR Amplifikasyonunda Kullanılacak Primerler ve Özellikleri.....	20
3.2. Yöntem .....	21
3.2.1. gDNA İzolasyonu .....	21
3.2.2. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları.....	22
3.2.3. Çalışmada Uygulanan PCR Programları .....	23
3.2.4. PCR Uygulaması .....	24
3.2.5. PCR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği ve Agaroz Jel Elektroforezi ve Tamponları .....	24
3.2.6. Dizileme ve Dizi Analizi .....	25
3.2.7. Filogenetik Analiz .....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>trnL</i> intron Jel Görüntüleri .....	28
4.2. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>trnL-F</i> Jel Görüntüleri .....	28
4.3. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>rbcL</i> Jel Görüntüleri .....	29
4.4. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>trnQ-rps16</i> Jel Görüntüleri .....	29
4.5. Nükleotid Kompozisyonlarının Belirlenmesi .....	30
4.6. Genetik Uzaklık Matrislerinin Belirlenmesi.....	34

4.7. Tajma's Neutrality Test Sonuçları.....	37
4.8. İkame Modeli ve Oranlarının Belirlenmesi .....	39
4.9. Filogenetik Aalar .....	42
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR .....	54
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	66
ÖZ GEÇMİŞ .....	67

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A,T,G,C</b>	: Adenin, Timin, Guanin, Sitozin
<b>cpDNA</b>	: Complementary Deoxyribo Nucleic Acid
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>Taq</b>	: <i>Thermus aquaticus</i>
<b>NCBI</b>	: National Center For Biotechnology Information
<b>ML</b>	: Maksimum Likelihood
<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b>Rpm</b>	: Revolutions Per Minute
<b>UV</b>	: Ultraviyole ışın
<b>PAUP</b>	: Phylogenetic Analysis Using Parsimony
<b>MEGA</b>	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>RNase A</b>	: RNA Parçalayan Enzim
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>TAE</b>	: Tris Asetik Asit Edta
<b>EtBr</b>	: Etidyum Bromür
<b>UPGMA</b>	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
<b>gDNA</b>	: Genomik DNA

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Türkiye filocoğrafyası.....	1
Şekil 1. 2. cpDNA örnek yapısı.....	6
Şekil 1. 3. <i>trnL</i> -F ve <i>trnL</i> intron intergenic spacer bölgeleri .....	7
Şekil 1. 4. <i>trnQ</i> - <i>rps16</i> intergenic spacer .....	8
Şekil 1. 5. <i>rbcL</i> gen bölgesi .....	9
Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan <i>Bornmuellera</i> türlerinin toplandığı iller .....	19
Şekil 3. 2. gDNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar .....	20
Şekil 3. 3. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait örnek Bioedit görüntüsü .....	26
Şekil 3. 4. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait örnek FinchTV görüntüsü.....	26
Şekil 3. 5. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait örnek MEGA 6.0 görüntüsü .....	27
Şekil 4. 1. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>trnL</i> intron bölgesine ait jel fotoğrafı.....	28
Şekil 4. 2. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>trnL</i> -F ait jel fotoğrafı. ....	28
Şekil 4. 3. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>rbcL</i> bölgesine ait jel fotoğrafı.....	29
Şekil 4. 4. <i>Bornmuellera</i> Türlerine ait <i>rbcL</i> ait jel fotoğrafı .....	29
Şekil 4. 5. <i>trnL</i> -F bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	42
Şekil 4. 6. <i>trnL</i> intron bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	43
Şekil 4. 7. <i>rbcL</i> bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	43
Şekil 4. 8. <i>trnQ</i> - <i>rps16</i> bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı .....	44



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan <i>Bornmuellera</i> türleri ve toplandığı lokaliteler.....	19
Çizelge 3. 2. Kloroplast (cpDNA) <i>trnL</i> intron, <i>trnL-F</i> , <i>rbcL</i> ve <i>trnQ-rps</i> 16 bölgesine ait primerlerin dizilimi.....	21
Çizelge 3. 3. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar .....	22
Çizelge 3. 4. <i>trnL</i> intron primerleri için uygulanacak PCR programı.....	23
Çizelge 3. 5. <i>trnL-F</i> primerleri için uygulanacak PCR programı.....	23
Çizelge 3. 6. <i>trnQ-rps16</i> primerleri için uygulanacak PCR programı .....	24
Çizelge 3. 7. <i>rbcL</i> primerleri için uygulanacak olan PCR programı.....	24
Çizelge 4. 1. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnL-F</i> bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri.....	30
Çizelge 4. 2. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnL</i> -intron bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri....	31
Çizelge 4. 3. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>rbcL</i> bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri.....	32
Çizelge 4. 4. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnQ-rps16</i> bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri....	33
Çizelge 4. 5. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnL-F</i> bölgesinin genetik uzaklık matrisi .....	34
Çizelge 4. 6. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnL</i> intron bölgesinin genetik uzaklık matrisi .....	35
Çizelge 4. 7. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>rbcL</i> bölgesinin genetik uzaklık matrisi.....	35
Çizelge 4. 8. <i>Bornmuellera</i> türlerine ait <i>trnQ-rps16</i> bölgesinin genetik uzaklık matrisi.....	36
Çizelge 4. 9. Tajma's Neutrality Test <i>trnL-F</i> Dizileri Değerleri.....	37
Çizelge 4. 10. Tajma's Neutrality Test <i>trnL</i> intron Dizileri Değerleri.....	37
Çizelge 4. 11. Tajma's Neutrality Test <i>rbcL</i> Dizileri Değerleri.....	38
Çizelge 4. 12. Tajma's Neutrality Test <i>trnQ-rps16</i> Dizileri Değerleri .....	38
Çizelge 4. 13. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>trnL-F</i> bölgesi ikame oranları .....	39
Çizelge 4. 14. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>trnL</i> intron bölgesi ikame oranları .....	40
Çizelge 4. 15. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>rbcL</i> ikame oranları.....	40
Çizelge 4. 16. <i>Bornmuellera</i> türlerinin <i>trnQ-rps16</i> bölgesi ikame oranları .....	41

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *BORNMUELLERA* HAUSSKN. (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN KLOROPLAST DNA (CPDNA) *TRNL*-INTRON, *TRNL*-F, *TRNQ-RPS16*, *RBCL* BÖLGELERİNE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ

**Okan K. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.**

**Amaç:** Bu çalışmada Anadolu'da yetişen *Bornmuellera* türlerinin *trnL*-F, *trnL* intron, *trnQ-rps16* ve *rbcL* bölgeleri baz alınarak filogenetik analizi yapılmıştır.

**Materyal ve Yöntem:** Çalışma materyalleri *Bornmuellera cappadocia*, *Bornmuellera glabrescens*, *Bornmuellera kiyakii*, *Bornmuellera angustifolia* türlerinin örneklerini içermektedir. Toplanan örnekler, Flora of Turkey'den teşhis anahtarına bakılarak Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY tarafından teşhis edilmiştir. *Bornmuellera* türleri laboratuvara getirilmiş, bir kısmı genomik DNA izolasyonu için kullanılmış ve bir kısmı da herbaryum örneği olarak muhafaza edilmiştir.

**Bulgular:** MEGA 6.0 programı hem filogenetik analizlerde hem de genetik uzaklıkların tespitinde kullanılmıştır. *trnL*-F bölgesi için ortalama nükleotid bileşimi %73.4 (A+T), %26 (G+C) olarak belirlendi. *trnL* intron için %62,9 (A+T), %37 (G+C), *trnQ-rps16* için %70.1 (A+T), %70,1 %29,9 (G+C) ve *rbcL* için %55.6 (A + T), %44.4 (G+C) içeriği belirlendi. *trnL* intron bölgesi için en düşük mesafe 0.003, en yüksek mesafe 0.029 olarak bulundu. *trnL*-F bölgesi için en düşük mesafe 0.012, en yüksek mesafe 0.038 olarak bulundu. *trnQ-rps16* bölgesi için en düşük mesafe 0.022, en yüksek mesafe 0.052 olarak bulundu. *rbcL* bölgesi için en düşük mesafe 0,002, en yüksek mesafe ise 0,005 olarak bulundu.

**Sonuç:** Çalışmadan elde edilen veriler sonucunda *Bornmuellera* türleri bir grup halinde toplanmıştır. *trnL*-F ağacında hem 4 Anadolu *Bornmuellera* türü hem de 4 Balkan *Bornmuellera* türü aynı grup bulunmuştur. Geçmiş yıllarda yapılan çeşitli filogenetik çalışmalarda *Bornmuellera* türlerinin tek grup halinde ortaya çıkması çalışmamızı desteklemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Brassicaceae, *Bornmuellera*, cpDNA, *trnL*-F, *trnL* intron, *trnQ-rps16*, *rbcL*

## ABSTRACT

### PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *BORNMUELLERA* HAUSSKN. (BRASSICACEAE) SPECIES GROWING IN TURKEY USING CHLOROPLAST DNA (CPDNA) *TRNL*-INTRON, *TRNL*-F, *TRNQ-RPS16*, *RBCL* REGIONS

Okan K. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Agricultural Biotechnology Program, Master Thesis, Aydın, 2022.

**Objective:** In this study, phylogenetic analysis of *Bornmuellera* species grown in Anatolia was conducted based on *trnL*-F, *trnL* intron, *trnQ-rps16* and *rbcL* regions.

**Material and Methods:** The study materials included the specimens of *Bornmuellera cappadocia*, *Bornmuellera glabrescens*, *Bornmuellera kiyakii*, *Bornmuellera angustifolia* species. The collected specimens, by looking at the identification key from Flora of Turkey were identified by Assoc. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY. *Bornmuellera* species were brought to the laboratory, some of them were used for genomic DNA isolation and some of them were preserved as herbarium specimens.

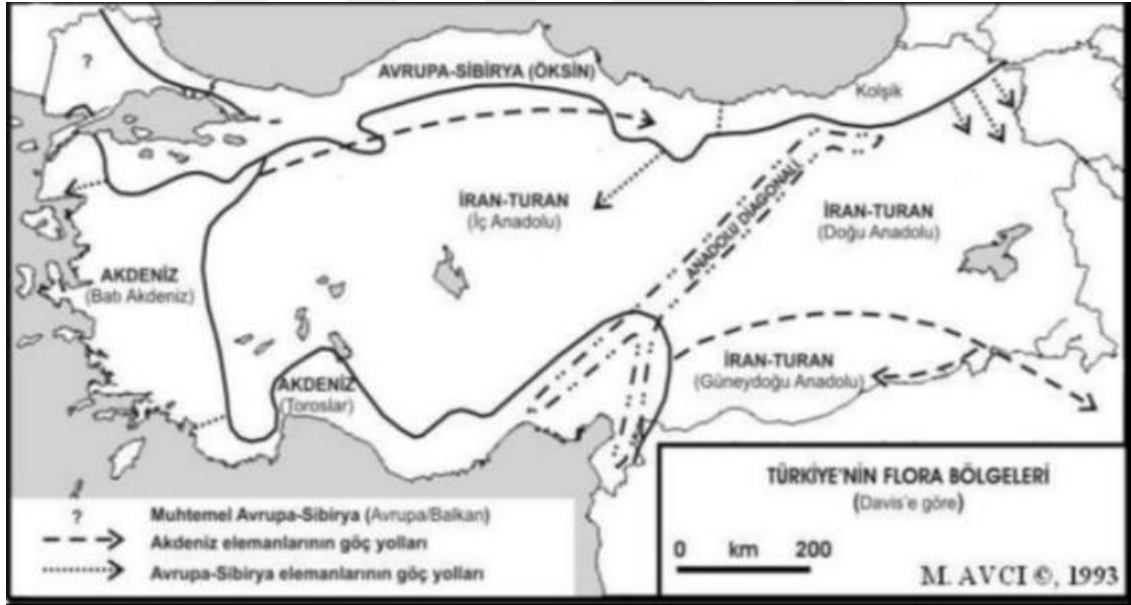
**Results:** MEGA 6.0 program was used both phylogenetic analyzis and the detection of genetic distances. For the *trnL*-F region, the mean nucleotide composition was determined as 73.4% (A+T), 26% (G+C). For the *trnL* intron, 62.9% (A+T), 37% (G+C), for *trnQ-rps16*, 70.1% (A+T), 70.1% 29.9% (G+C) and for *rbcL* 55.6% (A + T), %44.4% (G + C) content were determined. The lowest distance for the *trnL* intron region was found 0.003 while the highest distance was 0.029. The lowest distance for the *trnL*-F region was found 0.012 while the highest distance was 0.038 The lowest distance for the *trnQ-rps16* region was found 0.022 while the highest distance was 0.052. The lowest distance for the *rbcL* region was found 0.002 while the highest distance was 0.005.

**Conclusion:** As a result of the data obtained of the study, *Bornmuellera* species were collected in a group. In the *trnL*-F tree, both 4 Anatolian *Bornmuellera* species and 4 Balkan *Bornmuellera* species a same group were found. The emergence of *Bornmuellera* species in a single group in various phylogenetic studies conducted in the past years supported our study.

**Keywords:** Brassicaceae, *Bornmuellera*, cpDNA, *trnL*-F, *trnL* intron, *trnQ-rps16*, *rbcL*

## 1. GİRİŞ

Türkiye, Kuzey bölgesinde Avrupa-Sibirya florası, Batı ve Güney bölgesinde Akdeniz florası ve Orta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'yu kapsayan İran-Turan florası olmak üzere 3 farklı flora türüne sahiptir. Bu bölgelerin iklimsel ve karasal çeşitliliği Türkiye'ye zengin bir flora kazandırmaktadır (Avcı, 1993). Türkiye Florası ve Doğu Ege Adalarına göre Türkiye florası 174 familya, 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve alttür taksonu (alttür ve varyete) ile oldukça zengindir. Bu taksonların 234'ü egzotik ve kültür bitkileridir. Geriye kalan başka türler ise ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren bitkilerdir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Türkiye'de doğal olarak yetişen 12.000'den fazla bitki taksonu vardır ve bunların yaklaşık 3649'u (1/3 oranı) endemiktir (Güner vd., 2012). Ancak Türkiye'nin endemik zenginliği bu sayı ile sınırlı kalmayıp, ortalama her 10 günde yeni bir endemik taksonun varlığının keşfedilmesiyle artmaktadır (Güner vd., 2012; Torlak vd., 2010).



Şekil 1. 1. Türkiye Filocoğrafyası (Avcı,1993).

### 1.1. Dünya'da ve Türkiye'de Brassicaceae Familyası ve Özellikleri

Turpgiller (Brassicaceae = Cruciferae) familyası dünya genelinde 338 cins ve 3710 türün bulunmaktadır (Al-Shehbaz vd., 2006; Warwick vd., 2006; Sıralı vd., 2013; Satıl vd., 2017). Dünyanın birden fazla yerinde bulunan Brassicaceae familyası taksonları başlıca Kuzey

yarıkürenin ılıman kuşağında dağılım göstermektedir. Özellikle Akdeniz'in çevrelediği havzada, güney batı ve merkez Asya bölgelerinde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Ayrıca Güney Yarımküre'de az miktarda bulunan Brassicaceae familyası taksonları tropikal bölgelerde de birden fazla türü bulunmaktadır (Bailey vd., 2006). Bu familyaya ait üyelerin dünyanın büyük bir kısmına yayılmış olması adaptasyon gücünü göstermektedir. Yüksek adaptasyon gücüne sahip olan Brassicaceae familyası istilacı türler de içermektedir (Harper, 1977). En önemli farklılaşma merkezleri, İran-Turan bölgesi (150 cins ve 530'u endemik 950 tür) ve Akdeniz bölgesi (113 cins ve 290'ı endemik 630 tür) dir. Diğer önemli farklılaşma merkezleri ise Kuzey Amerika (99 cins ve 600'ü endemik 778 tür ) ve Saharo-Sindian bölgesi (65 cins ve 62'si endemik 180 tür) dir (Appel ve Al-Shehbaz 2003a). Ayrıca turpgiller familyasında ekili arazileri istila eden, bozulmuş alanları işgal eden ve yol kenarları ve açık alanlar gibi alanlarda yerel veya dünya çapında dağılan yaklaşık 120 zararlı yabancı tür vardır (Al-Shehbaz, 1984). Ülkemizde 98 cins, 605 tür ve toplamda 676 takson içeren brassicaceae familyası ülkemizde bulunan en büyük bitki familyalarından biridir. (Appel ve Al- Shehbaz, 2003b; Güner vd., 2012). Familyanın morfolojik yapısı incelendiğinde karakteristik bir morfolojik yapı gözlenmektedir. Dört adet serbest sepal ve haç şeklinde dört ader serbest petal bununla beraber tetradinam stamenler (4 uzun, 2 kısa), filamentler genellikle kanatlı, ekli veya dişli şekilde bulunmaktadır. Bununla beraber nektaryumlar stamenlerin tabanında çok çeşitli şekillerde dizili bir biçimde bulunur. Alt bölgede bulunan meyve ise 2 çenetle açılan bir kapsüldür (meyvenin boyu eninin 3 katından fazla ise silikua, meyvenin boyu eninin 3 katından az ise silikula olarak tanımlanmaktadır). Çoğunlukla yalancı bir septumla ayrılan bikarpellat ovaryum bulunmaktadır (Franzke vd., 2011; Hedge, 1965).

## **1.2. Brassicaceae Familyasının Farmakolojik ve Ekonomik Önemi**

Brassicaceae familyasının farmokolojik özelliklerini incelediğimizde kansere karşı çok güçlü bir şekilde koruyucu etki oluşturmaktadır. Brassicacea familyasına ait krusifer grubu sebzelerin kolorektal kanser (Poppel vd., 1999), akciğer kanseri (London vd., 2000) ve prostat kanserine (Giovannucci vd., 2003) karşı koruyucu olduğu görülmüştür. Brassicaceae familyasını incelediğimizde sebzelerinde kanserden koruyucu etkisi olduğu bilinen ve üzerinde en çok çalışılan biyoaktif bileşikler ise glukozinolatlardır (GLS). GLS'ler, Brassicaceae familyasındaki sebzelerde acı ve keskin tat oluşmasını sağlayan bileşiklerdir ve böcek saldırısı, kopma, kesilme v.b. stres durumlarında bitkinin zarar görmesi sırasında

meydana gelirler (Herr ve Büchler, 2010). Brassicaceae familyasındaki sebzeler birçok biyoaktif bileşik bulundurmaktadır. Bunlar arasında kuarsetin gibi flavonoidler, selenyum gibi mineraller ve C vitamini gibi vitaminler de bulunmaktadır. Brassicaceae familyasındaki sebzelerde kanserden koruyucu olduğu bilinen ve üzerinde en çok çalışılan biyoaktif bileşikler ise glukozinolatlardır (Fimognari ve Hrelia, 2007). Brassicaceae familyasında fazla miktarda bulunan Sulforofan olmak üzere glukozinolatların yıkım ürünleri, insanlarda bağışıklık sistemi enzimlerini (ör: glutatayon transferaz gibi) aktif hale getirirerek, zararlı maddelerin tutulması ve idrar yolu ile vücuttan atılımını gerçekleştirmektedir. Bununla beraber potansiyel kanserojenlerin DNA'yı hedef alarak zarar vermesi ve ilerde kontrolsüz hücre bölünmesi yani kansere dönüşmesinin engellenmesi sağlanmaktadır (Mithen vd., 2003). Brassicaceae familyası antioksidan bakımından zengindir bu sebeple örnekler incelendiğinde brokoli sebzesi antioksidan nitelik içerdiği bilinmekte olan vitamin E (α-tokoferol), vitamin A (öncül maddesi β-karoten) ve vitamin C (askorbik asit) açısından zengin bir sebze türüdür. Bu vitaminler, vücudumuzda çeşitli metabolik reaksiyonları neticesinde meydana gelen serbest oksijen radikallerini inhibe ederek organizmayı, serbest radikallerin neden olabileceği zararlı etkilerden korumaktadır. Brokkoli ayrıca iyi bir folik asit (folat, vitamin B9) kaynağı olarak da gösterilmektedir. Folik asit, birçok metabolik reaksiyonda, DNA sentezi, DNA onarımı ve alyuvarların oluşumunda görev alan temel bileşendir. Ayrıca, bebeklerde meydana gelebilecek gelişim bozukluklarını baskıladığından hamilelik çağlarında tüketilmesi önerilmektedir (Martin vd., 2010). Brassicaceae familyasının fenolik kompozisyonuna bakıldığında özellikle sebze olarak tüketilen bitkilerin, flavonoidler ve flavonoller içerdiği bilinmektedir. Bunların başlıcaları kaempferol, kuersetin ve bunlardan türevlenen (sinapik asit gibi) bileşikler olduğu görülmüştür (Cartea vd., 2011). Bu fenolik bileşiklerin insan solunum sistemi hastalıklarından sorumlu olan *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter faecalis* sp., *Bacillus subtilis* subsp. ve *Moraxella catarrhalis* gibi bakterileri öldürdüğü (antibakteriyel) belirlenmiştir (Ayaz vd., 2008). Fenolik bileşiklerin iltihaplı hastalıkların iyileşmesini sağlama ve kalp krizi riskini düşürücü etkisi de bulunmaktadır (Tsao, 2010; Manach, 2005). Brassicaceae familyasında bulunan birden fazla türün son yıllarda dünyanın birçok yerinde kültürü yapılmaktadır. Bu familya, önemli süs bitkileri, endüstriyel bitkiler, yemeklik yağlar, hayvan yemi, baharatlar ve sebze gibi bitkileri bakımından çok yönlü ekonomik türleri bulundurmaktadır (Sıralı vd., 2013). Bu türler incelendiğinde en çok dikkat çeken yemeklik yağ bitkisi Kanola diğer adı ile *Brassica napus* L. olmaktadır. Yağ endüstrinde *Sinapis alba* L. ve *Brassica nigra* L.

taksonomik adlarını taşıyan siyah ve beyaz hardal tohumlarında kullanılmaktadır. Brassicaceae familyası yem bitkisi olarak ekonomide kullanımı bulunmaktadır. Şalgam ve Kolza yeşil yem bitkisi niteliğinde silaj oluşumunda değerlendirilmektedir (Tansı vd., 1999). Çivit otu olarak bilinen *Isatis tinctoria* türü mavi renkli boya elde edilmesinde kullanılmaktadır (Ketenoglu vd., 2011). Birden fazla moleküler çalışmada model bitki olarak kullanılmakta olan *Arabidopsis thaliana*, bitki genetiği, gelişimi, fizyolojisi, ürün islahı, hastalıklara karşı direnç ile ilgili araştırmalarda kullanılmakta olan mühim bitkilerden biridir (Appel ve Al-Shehbaz, 2003). *Cheiranthus cheiri* L. (Şebboy), *Hesperis* ssp. (Çoban yıldızı) ve *Lunaria annua* L. (Sedef çiçeği) gibi turpgil türleri evlerde, park ve bahçelerde süs bitkisi olarak peyzajcılık sektöründe kullanılmaktadır (Martin vd., 2011). Brassicaceae familyasının kullanım grupları incelendiğinde gıda (yağ ve sebze) ve yakıt (biyodizel) üretme amacıyla kullanımı oldukça fazladır (Mao vd., 2012).

### 1.3. *Bornmuellera* Hausskn. Türünün Genel Özellikleri

Bornmüller'in adını taşıyan 2 cins adı vardır. Biri halen geçerlidir. Diğeri eş anlamlığa indirilmiştir. *Bornmuellera* Hausskn. (Cruciferae, 1897), halen geçerli olanıdır ve Türkiye florasında 4 endemik tür ile temsil edilmiştir. Üçü Flora of Turkey'de kayıtlıdır. Dördüncüsü daha sonra tanıtılmıştır (Aytaç ve Aksoy 2000). *B. glabrescens* (Boiss. et Bal.) (Cullen, 1965) *B. cappadocica* (DC.) (Cullen, 1965) *B. angustifolia* (Hausskn. et Bornm.) (Cullen, 1965) *B. kiyakii* (Aytaç ve Aksoy, 2000). Kuzey Yunanistan, Arnavutluk ve Kosova Cumhuriyeti topraklarında yerli olan *Bornmuellera* türleri, Anadolu'da yetişenlerden farklıdır (Hartvig 2002; Greuter vd., 1986; Heywood, 1964). *Bornmuellera* türlerinin önemli bir özelliği, bitkinin nikel biriktirebilmesidir. Reeves vd., (1983)'te yaptıkları analizlere göre, Türkiye'den toplanmış *B. angustifolia*, *B. cappadocica*, *B. glabrescens* yapraklarında değişik miktarlarda nikel bulunmaktadır ve en yüksek oran *B. glabrescens*'te bulunmuştur: 14,800 - 19,200 µg/g, kuru maddede (Reeves vd., 1983). *Bornmuellera* geçmiş çalışmalar incelendiğinde genel olarak morfolojik açıdan çok yıllık yaşam formuna sahiptir. Malpighiaceae trikومların varlığı ve sakkat olmayan sepaller bulunmaktadır. Bununla beraber beyaz petaller ile şişirilmiş tüysüz silisler içermektedir (Reşetnik vd., 2013; 2014). *Leptoplax* ve *Bornmuellera* arasında paylaşılan tanıs morfolojik karakterler arasında malpighiaceae tüyler, keseli olmayan sepals, geniş yaprakları olan beyaz çiçekler ve uzantıları olan filamentler bulunur. Her iki cins de x=8'lik bir temel kromozom sayısını paylaşır (Constantinidis vd., 2002; Peltaria: Warwick ve Al-

Shehbaz, 2006'da  $x=7$  ile karşılaştırıldığında) ve serpantinli topraklarda ekolojik bir uzmanlaşma ve nikel hiperbirikim yeteneği bulunur. Ayrıca, *L. emarginata*, sempatik *Bornmuellera* türleri, *B. tymphaea* ve *B. baldaccii* ile kolay ve kapsamlı bir şekilde melezleşir (Ball, 1993; Hartvig, 1986; 2002).

#### **1.4. Moleküler Sistematiği**

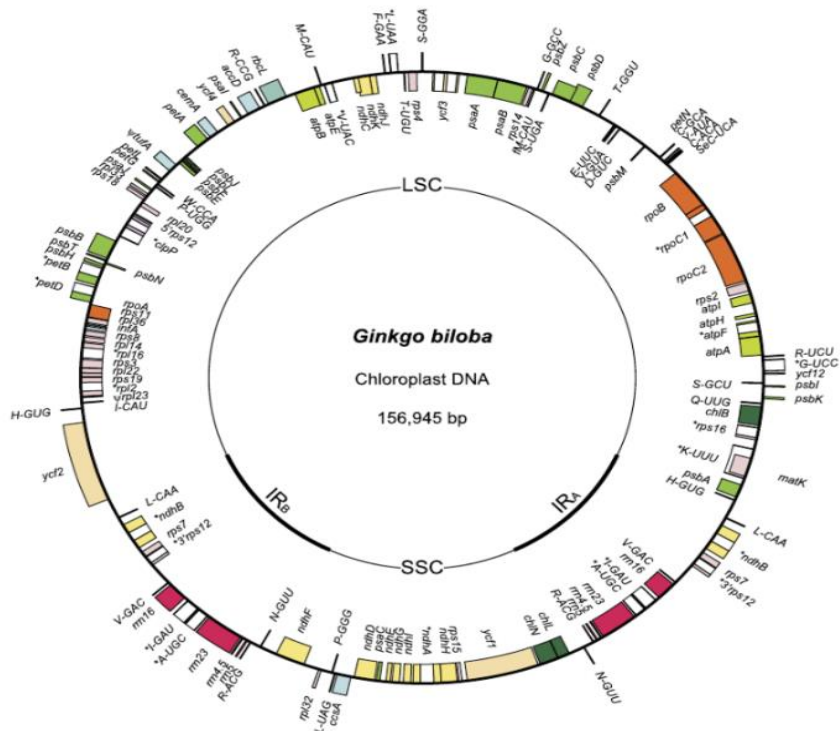
Moleküler biyolojideki ve DNA sekanslama teknolojilerindeki son gelişmeler, organizmaların genomlarını karakterize etmemize olanak sağlar ve çeşitli türler için devam etmekte olan birden fazla genom projesi, biyolojileri ve kullanımları hakkında değerli bilgiler vermektedir. Moleküler biyoloji bilgilerinin sistematiği ve evrime uygulanması, bitki sistematiğine önemli katkılar sağlamış ve moleküler sistematiğin sağlam bir disiplinlerarası alan olarak ortaya çıkmasıyla sonuçlanmıştır (Mort vd., 2001). Morfolojik olarak ayırtılmayan türlerin sınıflandırılmasına DNA tabanlı analizler fayda sağlamaktadır (Fior vd., 2006). Moleküler sistematiği çalışmalarda genellikle çok tekrarlı nükleer ribozomal DNA (nr DNA), mitokondri DNA'sı (mtDNA) ve kloroplast DNA'sı (cpDNA) genom veri kaynağı olarak kullanılmaktadır (Cho vd., 2004; Graham ve Olmstead, 2000; Qiu vd., 1999; Palmer, 1985). Günümüzde teknolojinin hızlı gelişimi ile sistematiği, morfolojik benzerliği ve klasik taksonomik yöntemlerle tam olarak açıklanamayan sistematiği bir yaklaşım sağlamaktadır. Sistematiğiçiler farklı sınıflandırma kategorilerinde, problemleri çözmek için moleküler veriler kullanarak, bitkileri yeniden düzenlemek için revizyon çalışmalarına yönelmişlerdir (Felsenstein, 1985; Bremer vd., 2003). Moleküler filogenide genomik kaynakların kullanımı standart DNA bölgesi tanımlamasının kullanımına dayalı bir yöntem olarak görülmektedir (Sancar, 2017).

#### **1.5. Kloroplast DNA (cpDNA)**

Kloroplastlar fotosentez reaksiyonunun gerçekleştiği organeldir. İki zarla çevrili olan kloroplast her organelde fazla miktarda bulunmakta olan halkasal DNA'lardan oluşması sebebiyle ve bununla beraber çift iplikli DNA içermeleri, semikonservatif replike olmaları ve proteinle kaplı yapıları olmaması ile mitokondri genomuna benzemektedir. Bu iki organeli ayıran özellik ise kloroplast genomları mitokondri genomlarından büyük ve karmaşık yapıya sahip olmasıdır. Kloroplast genomunun yapısı incelendiğinde ortalama 150 gen ihtiva etmektedir. Genomu 100-225 kb arasında olan Kloroplast DNA, çekirdek



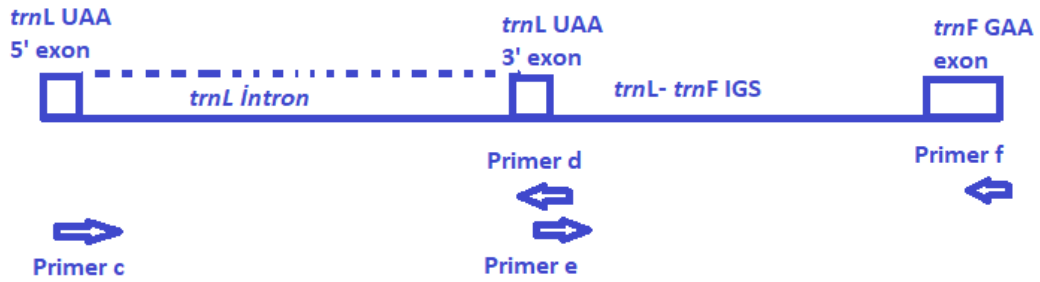
DNA'sı ile birlikte fotosentez reaksiyonunu birbirlerinden ayrı iki farklı genom tarafından gerçekleştirmektedir. Kloroplast DNA, bulundurduğu proteinlerden 100'ü kendi genomu tarafından kodlanmaktadır. Diğer proteinler ise çekirdek genomu gözetiminde kodlanmaktadır (Sugiura, 2005; Karataş, 2012). Kloroplast genomu, çekirdek genomuna göre birden fazla avantajı vardır. Bu avantajlar; izole edilebilmesi, kodlayıcı genlerin klonlanması ve dizilenme işlemlerinin kolay olmasıdır (Clegg, 1993). Kloroplast DNA'sı çekirdek genomuna göre küçük olması, tek ebeveynli kalıtım sergilemesi, genomdaki gen dizilişinin korunması ve genomun konservatif biçimde evrimleşmesi sebebiyle filogenetik ve popülasyon genetiği araştırmalarında yaygın bir şekilde kullanılıp türler arası doğal melezlemelerin incelenmesinde kullanılmaktadır (Palmer, 1985). Yüksek miktarda mutasyon içeren kodlanmayan DNA bölgeleri, evrimsel ilişkilerin belirlenmesinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Taberlet vd., 1991). Filogenetik analizlerde yaygın bir biçimde kullanılan ve kodlanmayan bölgelerin, kodlanan bölgelerden değişime fazla eğimli olması nedeniyle Kloroplast DNA'sı taksonlar arası filogenetik analizlerde daha çok kullanılmaktadır (Downie vd., 2000; Xu vd., 2000)



Şekil 1. 2. cpDNA Örnek Yapısı (Lin vd., 2012).

### 1.5.1. *trnL-F* ve *trnL* intron Bölgesi

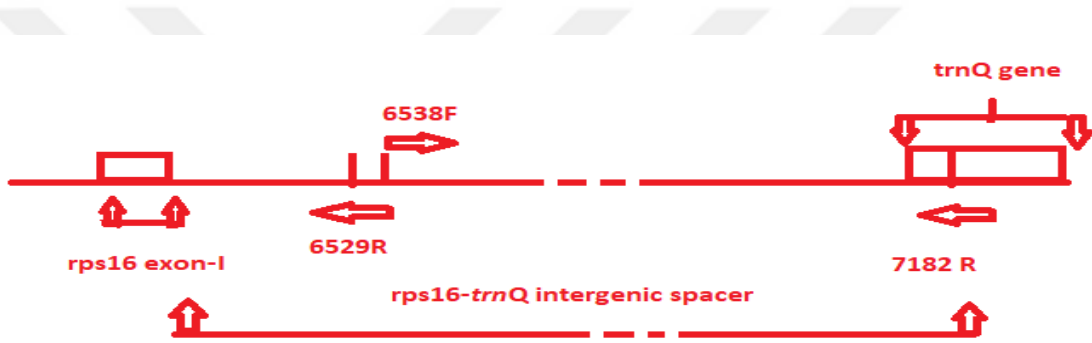
Kloroplast DNA'sının en fazla kullanılan bölgelerinden biri *trnT* ve *trnF* aralığıdır. *trnT* ve *trnF* aralığı lösin aminoasidinin aktarılmasını olanak sağlayan transfer RNA'yı kodlayan *trnL* (UAA) geni ve yan yana olan genler arası bölgeyi (intergenik bölge-IGS) yani *trnT-L* ve *trnL-F*'yi içermektedir (Kelchner, 2000; Taberlet vd., 1991). Bu bölgelerden sık tercih edilenler *trnT*(UGU) - *trnL*<sup>(UAA)</sup> IGS, *trnL*5'-*trnL*3' intron ve *trnL*<sup>(UAA)</sup> - *trnF*<sup>(GAA)</sup> IGS bölgeleridir. *trnL* intron ve *trnL-F* arasındaki bölge, bitki filogenisinde sıklıkla kullanılan kodlamayan bir DNA bölgesidir (Quandt vd., 2004). İntergenik boşluk, *trnL*<sup>(UAA)</sup> 3' eksonu ve *trnF*<sup>(GAA)</sup> geni arasında yer alır (Taberlet vd, 1991; Gielly ve Taberlet, 1996; Gielly ve Taberlet, 1994). Bu bölge, *rbcL*'den üç kat daha hızlı gelişir. Genler arasındaki boşluklar kolaylıkla kopyalanabilir ve sıralanabilir (Taberlet vd, 1991). *trnL* geni iki korunmuş ekzon içerir. Bu ekzonlar bir dizi intronla ayrılır. Bu bölge, türler arası filogenetik analiz için kullanılır ve büyük bir yer değiştirme oranına sahiptir (Yang ve Pak, 2006). *trnL* geni iki korunmuş ekzon içerir. Bu ekzonlar bir dizi intronla ayrılır. Bu bölge, türler arası filogenetik analiz için kullanılır ve büyük bir yer değiştirme oranına sahiptir (Yang ve Pak, 2006). *trnL* geni yüksek oranda korunmuş iki ekzon bölgesi içerir; bu ekzonlar grup I intronlarla ayrılır. Bu ayırmda yan kısım yüksek oranda korunurken orta kısım oldukça değişkendir (Bakker vd, 2000). Bu değişken bölgedeki nükleotid sayısı 350-600 bp arasında değişmektedir ve filogenetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Soltis ve Soltis, 1998).



Şekil 1. 3. *trnL-F* ve *trnL* intron intergenic spacer bölgeleri (Taberlet vd.,1991).

### 1.5.2. *trnQ-rps16* Bölgesi

Kloroplast geni *rps16*'nın intronu, farklı çiçekli bitki familyalarındaki filogenetik çalışmalar için kullanılmıştır (Oxelman vd., 1997; Baker vd., 2000; Lee ve Hymowitz, 2001), ancak alt türlerde çözünürlüğünün zayıf olduğu bildirilmiştir (Baker vd., 2000). *trnQ-rps16* Kloroplast DNA'sında LSC (large single copy) bölgesinde bulunmaktadır ve ortalama uzunluğu 1046 bp dir. Ancak bu değer 588-1975 bp arasında değişmektedir (Shaw vd., 2007). *rps16-trnQ* intergenik aralayıcı ayrıca düşük taksonomik düzeydeki filogenetik çalışmalar için de kullanılmıştır (Pan vd., 2007). Hahn (2002), Arecoide türlerinde (Arecaceae) çalışmasında bu bölge kullanılmış ve *rbcL* veya *atpB* genlerinden daha fazla karakter sunmuştur.

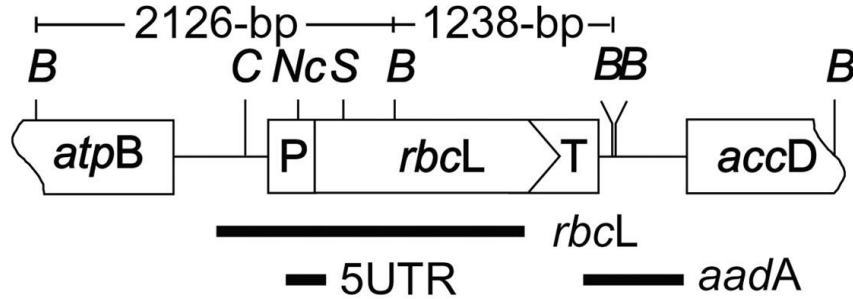


Şekil 1. 4. *trnQ-rps16* intergenik spacer (Shaw vd., 2007).

### 1.5.3. *rbcL* gen Bölgesi

Gen bankasında bulunmakta olan elli binin üzerinde mevcut DNA sekans verileriyle filogenetik araştırmalarda fazla miktarda kullanılmaktadır. Özelliği ise ribuloz 1-5 bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RUBISCO ya da RuBPCaz) büyük alt ünitesini kodlamaktır. Tek kopya olan *rbcL* geninin ortalama uzunluğu 1430 bp dir. Evrimleşmesi yavaş olan *rbcL* gen bölgesinin birden fazla kara bitkilerinde çoğaltım ile birlikte DNA dizi ve hizalama işlemlerinin basit bir şekilde olmasıyla beraber bitkilerde cins ve aile aşamalarında iyi bir DNA barkodlama bölgesidir. Ayrıca *rbcL* dizileri çiçekli bitkilerin plastid genlerinde en düşük farklılığı bulundurmaktadır (Kress vd., 2005). DNA barkod çalışmalarında kullanılan *rbcL* gen bölgesinin dezavantajları arasında tür seviyesinde ayırım için potansiyeli uygun değildir (Fazekas vd, 2008;. Lahaye vd., 2008; CBOL Bitki Çalışma Grubu, 2009; Chen vd., 2010). Bu dezavantajlara rağmen *rbcL* geninin avantajları yüksek miktarda ulaşılabilir veri, gen dizisinin kolay elde edilebilmesi ve bununla beraber fazla üstün olmayan ama yüksek

ayrım gücü niteliklerine bakılarak *rbcL* gen bölgesi günümüzde hala en iyi potansiyel aday bitki barkodu olarak tercih edilmektedir (Blaxter, 2004; CBOL Bitki Çalışma Grubu, 2009; Hollingsworth vd., 2011).



Şekil 1. 5. *rbcL* gen bölgesi (Whitney ve Andrews, 2001).

## 1.6. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç

Filogenetik araştırmalarda, çeşitli protokoller, istatistikler ve sonuçlar filogenetik bir ağaca dönüştürülmelidir. Bir filogenetik ağaç dizileme çalışması sonucunda elde edilen verilerin görsel analizi ile anlaşılır hale getirmektedir (Freeman ve Herron, 1999). Filogenetik ağaçlar dallanma olaylarını ve zamanlamasını tanımlar. Türlerin yakınlıkları, hangi türlerin yakından ilişkili ve hangi türler uzaktan ilişkili ve türleşme dönemleri hakkında bilgi sağlar. Filogenetik ağacın iki temel özelliği vardır. Bir ağacın kökü (düğüm) ve dalı (dal), bir filogenetik ağacın iki temel parçasıdır. Kladlar, zaman içinde ataların popülasyonlarındaki değişiklikleri gösterir. Kök, bir türün farklı türlere ayrıldığı noktayı temsil eder (Mount, 2001). Filogenetik ağaçtaki her düğümün evrim sırasında ayrılan bir taksona tekabül eder. Ağaçta bulunan dış dallar takson, iç dallar ve düğümler taksonların birbirleri ile ilişkilerini gösterir. Yakın akraba türler arasındaki ilişkiyi yansıtan ağaçta türler birbirine yakın dallarda bulunur ve konumlarıyla ayırt edilirler. Bir ağaçta dalların uzunluğu dallarda oluşan değişim miktarını ifade eder (Saitou ve İmanishi, 1989).

### 1.6.1. Filogenetik Ağaç Oluşturma Metodları

Filogenetik ağaç oluşturma yöntemleri genellikle mesafeye dayalı yöntemler ve karakter bazlı yöntemler olarak ikiye ayrılır. Mesafeye dayalı yöntemler, küme tabanlı yöntemler ve optimallik tabanlı yöntemler olarak iki alt başlıktan oluşmaktadır. Mesafeye dayalı yöntemler, bir dizi grubundaki her bir çift arasındaki değişiklik sayısına dayalı olarak filogenetik ağaçlar elde eder. Bir ağaç oluşturmak için birleştirilecek genetik uzaklığı en

küçük mesafeye sahip türler seçilir ve bütün hale gelir. Mesafeye dayalı yöntemlerle hizalanmış diziler arasındaki farkların düşük ve yüksek miktarlarına göre ağaç meydana gelmektedir. Mesafe tabanlı yöntemler diğer yöntemlere göre daha pratik ve hızlıdır. Küme tabanlı yaklaşım UPGMA ve NJ yöntemlerinden oluşurken, optimalite tabanlı yöntemler FitchMargoliash ve minimal evrim yöntemlerinden oluşur. MP, ML ve Bayes yöntemleri, karakter tabanlı yöntemlere dahildir (Freeman ve Herron, 1999; Sarıçam ve Müştak, 2015; Mount, 2001).



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Rešetnik vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada, Brassicaceae içindeki çok sayıda moleküler sistematik çalışma, jenerik düzeyde ve jenerik düzeydeki morfolojik olarak tanımlanmış birimlerin genellikle filogenetik ilişkileri zayıf bir şekilde yansıttığı bulunduğundan, ailenin güçlü bir şekilde iyileştirilmiş sınıflandırmasıyla sonuçlandırmışlardır. Burada, boyutuna rağmen (tüm türlerin yaklaşık %7'sini oluşturan) önceki filogenetik çalışmalarda yalnızca sınırlı bir kapsama sahip olan Alysseae kabilesine odaklanılmıştır. Spesifik olarak, mevcut kabile ve jenerik sınırlamaların ima ettiği filogenetik hipotezleri test etmek ve Alysseae kabilesindeki çeşitliliği zamansal bir bağlama yerleştirilmek istenilmiştir. Bu amaçla, nrDNA ITS'den ve iki plastid bölgeden (*ndhF* geni, *trnL-F* intergenik aralayıcı) dizi verileri, kabilenin şu anda tanınan 17 cinsinden 16'sını temsil eden 176 katılıma için elde etmişlerdir ve filogenetik olarak analizi gerçekleştirmişlerdir. Brassicaceae'nin yayınlanmış yaşlarına göre büyük farklılıklar nedeniyle, Alysseae ile ilgili yaş tahminleri önemli ölçüde belirsizlikle karşı karşıyadır. Kabile monofiletiktir ve güçlü bir şekilde desteklenen dört ana dal ve nükleer ve plastid DNA işaretleri arasındaki uyumsuzluklar nedeniyle birbirleri arasındaki ilişkileri belirsiz kalan *Alyssum homalocarpum* içermektedir. Kabilenin en büyük cinsi olan *Alyssum*, monofiletik değildir ve *A. homalocarpum* dışında, sırasıyla *Alyssum*, *Psilonema*, *Gamosepalum* ve *Odontarrhena* ve *Meniocus* bölümlerine karşılık gelen iki farklı soy içerir. Monofili yalnızca plastid verileriyle desteklenen *Clypeola*, ikinci *Alyssum* soyu ile çok yakından ilişkilidir ve muhtemelen onun içinde yuvalanmıştır. *Fibigia* cinsinin türleri, *Alyssoides*, *Clastopus*, *Degenia* ve *Physoptychis*'inkilerle karışarak *Fibigia*'yı polifiletik hale getirir. Monotipik cins *Leptoplax* ve *Physocardamum*, *Bornmuellera*'da gömülü olduğu tespit edilmiştir.

Çıtak vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada iki *Bornmuellera* Hausskn'un morfolojik, anatomik ve palinolojik özellikleri incelenmiştir. Türkiye'ye endemik olan taksonlar incelenmiştir. *B. kiyakii* Aytaç & Aksoy, serpantin bölgelerinde yetişen Konya ilinden, *B. glabrescens* (Boiss. & Balansa) Cullen & T. R. Dudley ise Niğde ilinden bilinmektedir. Morfolojik analizler ile taksonların özellikleri belirlenmiş ve tanımları genişletilmiştir. Sapın, yaprağın, trikomların ve kapsülün morfolojisi, incelenen taksonları ayırmak için gereklidir. Anatomik analizler, taksonların benzer anatomik kök, gövde ve

yaprak doku katmanlarına sahip olduğunu göstermiştir; ancak taksonlar arasında sıra ve mezofil kalınlıkları farklı olduğu bildirilmiştir. *B. kiyakii*'de endodermisin varlığı, gövde kesitlerinde öz bölgesi, *B. glabrescens*'de doğrusal şekilli yaprak ve *B. kiyakii*'de üçgen şekilli yaprak gibi anatomik özellikler taksonomik öneme sahiptir. İncelenen taksonların polen taneleri trikolpat, izopolar ve radyal simetrik, prolate-sferoidal ve ağsı süslemeye sahip olduğu bildirilmiştir. *B. kiyakii*'nin meyveleri, oval, simetrik ve açık yeşil-sarı kapaklara sahip olan *B. glabrescens*'inkinden açıkça farklı olan, yuvarlak, asimetrik ve buruşuk süslemeli sarı-morumsu-pembe kapakçıklarla karakterize edilmiştir. Tohum özelliklerinin açıkça taksonomik önemi olduğu ortaya çıkarılmıştır. *B. glabrescens*'in tohumları yuvarlak şekilli, sarımsı-kahverengi, ağsı süslemeli; ancak *B. kiyakii*'nin tohumları dikdörtgen-eliptik şekilli ve kiremit kırmızı-kahverengi olduğu bildirilmiştir.

Cecchi vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada amaç Nikel (Ni) hiperakümülyasyon, ultramafik topraklarda büyüyen az sayıda angiosperm tarafından paylaşılan nadir bir fizyolojik uzmanlaşma şeklidir. *Alyseae* (Brassicaceae) kabilesinin Avrupalı üyeleri arasındaki bu özelliğin evrimsel modelleri, cins, tür ve tür altı seviyesinde Ni hiperakümülatörleri arasındaki ilişkileri değerlendirmek için filogenetik bir yaklaşım kullanılarak araştırılmıştır. Yöntemler incelendiğinde dahili kopyalanmış aralayıcı (ITS) dizileri, *Alyseae*'nin çoklu erişimleri için oluşturulmuştur. *Alyssum* kabilesinin cinsleri için filogenetik ağaçlar elde etmişlerdir. Herbaryum materyali, dimetilglioksim kolorimetrik yöntemle Ni hiperakümülyasyonu için test etmişlerdir. Temel sonuçlar incelendiğinde moleküler veriler, *Alyseae* içinde *Bornmuellera*'nın hiperakümülatör türlerinin kardeşi olarak az bilinen hiperakümülatör endemik *Leptoplax* (*Peltaria*) *emarginata*'yı güçlü bir şekilde desteklemektedir. Bu, *L. emarginata* ile *Thlaspidaceae*'deki hiperakümülatör olmayan *Peltaria* arasındaki mevcut yakınlık varsayımlarına aykırıdır. *Bornmuellera-Leptoplax* soyu, sırayla, iki hiperakümülatör olmayan Akdeniz endemikleri *Ptilotrichum rupestre* ve *P. cyclocarpum*'un yakınlık göstermiştir. Monofiletik *Alyssum* mezhebi içinde düşük ITS dizi varyasyonu bulmuşlardır. *Odontarrhena* ve özellikle *A. murale* sensu lato'da. Nikel hiperakümülyasyonu, her biri farklı coğrafi kökene sahip hiperakümülatörlerden ve hiperakümülatör olmayanlardan oluşan üç ana dalın hiçbirinde monofiletik olmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak *Alyseae*'deki nikel hiperakümülyasyonunun çift kökeni vardır, ancak *Thlaspidaceae*'de gelişmemiştir. *Bornmuellera-Leptoplax*'ta, Akdeniz *Ptilotrichum*'un kalkerli, kardeş kanadıyla paylaşılan bir atadan miras alınan erken bir sinapomorfiyi temsil

eder. Alyssum kabilesinde, Odontarrhena, tanınan üç Avrupa kladında bile birden fazla kökene sahiptir. Coğrafi uyum eksikliği, bağımsız mikroevrimsel adaptasyon ve seçim olayları yoluyla Güney Avrupa'nın farklı serpantin bölgelerinde birikim yeteneğinin kaybedildiğini veya kazanıldığını göstermektedir. *A. murale* kompleksindeki genetik devamlılık ve güçlü fenotipik plastisite, resmen tanınan Ni hiperakümülatör taksonlarının sayısının azaltılmasını gerektirir.

Chardot vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada *Leptoplax emarginata* ve *Bornmuellera tymphaea*, Yunanistan'daki serpantin topraklara özgü Brassicaceae familyasının nikel hiperakümülatörleridir. Yapılan çalışmada, bu bitkilerin büyüme ve alım davranışlarını Ni hiperakümülatör türleri *Thlaspi caerulescens* ve *Alyssum murale* ile karşılaştırmak ve bunların toprak Ni mevcudiyeti üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bitkiler, Ni mevcudiyeti bakımından farklılık gösteren üç toprakta 3 ay boyunca büyütülmüştür. Topraklarda Ni mevcudiyeti, izotopik değişim kinetiği ve DTPA-TEA ekstraksiyonları ile ölçülmüştür. Sonuç olarak, *L. emarginata*'nın diğer bitkilerden önemli ölçüde daha fazla biyokütle ürettiğini gösterdiği bildirilmiştir. Serpantinli toprakta *B. tymphaea* en yüksek Ni konsantrasyonunu sürgünlerde gösterilmiştir. Bununla birlikte, üç toprakta Ni fito ekstraksiyonu *L. emarginata* ile maksimum olmuştur. *A. murale* serpantin zeminde Ni mevcudiyetini azaltmada en az etkiliydi. *L. emarginata*, Ni fito ekstraksiyonu ve Ni mevcut havuzunun azaltılması için en verimli tür olarak ortaya çıkmıştır.

Özüdoğru ve Mummenhoff (2020) tarafından yapılan bir çalışmada Balkan Yarımadası ve Anadolu'daki ayrık dağılım modellerini anlamak, sağlam biyocoğrafik hipotezleri yeniden inşa etmek için önemli olduğunu rapor etmişlerdir. Bu, Kuvaterner buzullaşma / buzullar arası dönemler sırasında Avrupa'nın yeniden kolonizasyon modellerini ve Anadolu'nun bir sığınak olarak potansiyel rolünü anlamada etkilidir. Ne yazık ki, bu tür süreçleri ortaya çıkarmak için sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Burada, biyocoğrafik tarihini yeniden yapılandırmak için Balkanlar ve Anadolu'da dağınık bir dağılıma sahip *Bornmuellera* (Brassicaceae) cinsinin sekiz türünün tümünü kullanmışlardır. Nükleer iç transkripsiyonlu aralayıcı (ITS) ve plastid *trnL-F* bölgelerini uygulamışlardır ve *Bornmuellera*'nın monofiletik olduğunu ve Anadolu türlerinin monofiletik olmadığını ve temsilciler arasında ayrılık Anadolu kladında (*B. cappadocica* ve *B. kiyakii*) ayrım göstermiştir.



Fırat ve Başer (2005) tarafından yapılan çalışmada Türkiye florası için kullanılan gridleme sistemine göre Mayıs 2013'te Van Gürpınar bölgesine tekabül eden *Bornmuellera cappadocica* B9 meydanından ve Haziran 2014'te Ağrı Tutak bölgesine karşılık gelen *Physocardamum davisii* B9 meydanından toplanan örnekler, herbaryum kuralları kullanılarak arazide preslenmiş, lokasyonları ve popülasyon gözlemleri titizlikle kayıt altına alınmış, bitkilerin doğal halini en iyi şekilde yansıtacak makro ve genel fotoğraflar çekilmiştir. Türlerin polen özellikleri, ışık mikroskobu (LM) çalışmaları için Asetholize Olmayan Yöntemi (Wodehouse Yöntemi) takip eden preparasyonlarda incelenmiştir. Kutup eksenini (P) için ölçümler ekvator eksenini (E), kolpi uzunluğu, apokolpiyum, mezokolpiyum, ekzin kalınlığı ve intin kalınlığı her numune için ışık mikroskobunda yapılmıştır. Polen ve tohum morfolojileri ilk kez bir Taramalı Elektron Mikroskobu ve bir Işık Mikroskobu kullanılarak incelenmiştir. SEM'de bulunan polenlerin dış yüzey ve yüzey süslenmesi sonucu yapılan ölçümler üzerinde ışık mikroskobunda yapılan morfometrik ölçümler ile tohumların LM ve SEM mikrofotografaları çekilmiş, boyutları ölçülmüş ve yüzey süslemeleri tespit edilmiştir.

Reeves ve Adıgüzel (2008) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'deki ve komşu ülkelerdeki serpantin topraklarının botanik araştırmaları, bölgenin aşırı nikel biriktirebilen (bitki kuru ağırlığının  $>0,1$ 'ine kadar) en az 59 takson içerdiğini göstermiştir. Bu hiperakümülatörler Brassicaceae (*Aethionema* R.Br., *Alyssum* L., *Bornmuellera* Hausskn., *Pseudosempervivum* (Boiss.) Grossh. (*Cochlearia* L.) ve *Thlaspi* L. s.l.) ve Asteraceae (*Centaurea* L.) familyasına aittir. Hiperakümülatörlere ilişkin mevcut bilgileri gözden geçirilmiştir ve yakın zamanda elde edilen ek verileri sunmuşlardır. Bazı türler serpantin-endemiktir ve her zaman Ni hiperbirikimlidir; diğerleri daha karmaşık dağılım ve Ni biriktirme davranışı gösterir. Birçoğu Ni-birikimi ve ayırma süreçleri üzerine biyokimyasal çalışmalar için iyi konulardır. Türkiye'de Ni ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi ve hiperakümülatörlerin kırılmasıyla metal bileşiklerinin ekonomik olarak seçici olarak çıkarılması (fitoinasyon) için Ni hiper birikiminden yararlanma potansiyeli bulunmaktadır. Bununla birlikte, doğal kaynakların daha fazla araştırılmasına ve geleneksel ve DNA yöntemleriyle daha fazla taksonomik çalışmaya ihtiyaç vardır. İlgili türlerin bazıları oldukça nadir olduğu için koruma konularına dikkat edilmelidir.

Reeves vd. (1983) tarafından yapılan çalışmada Serpantinli topraklarda bulunan 45 *Alyssum* (Cruciferae) türünün (kuru kütle bazında) 1000 µg/g'ın üzerindeki seviyelerde nikel biriktirebildiği daha önce gösterilmiştir. Tribus Alyseae'nin Eski Dünya cinslerinin çoğu türü üzerinde yapılan bir araştırma, bu dikkate değer nikel birikiminin Türkiye ve Balkanlardan beş ek serpantin takson tarafından sergilendiğini göstermiştir: *Alyssum peltarioides subsp. virgatiforme*, *Bornmuellera glabrescens*, *B. baldaccii*, *B. tymphaea* ve melez *B. × petri*. Bu taksonların tümü, %1.0-3.1 aralığında maksimum nikel konsantrasyonlarına sahiptir. *Alyssum* türleri için daha önce bildirilmeyen taksonlar da dahil olmak üzere ek veriler sunulmaktadır. Bitki türlerinin olumsuz edafik faktörlere adaptasyonu nispeten kısa bir sürede gerçekleşebilse de, şimdiye kadar nikel akümülatörleri olarak tanınan tüm türlerin Pleistosen buzullarının maksimum ilerlemesinin ötesindeki bölgelerden olması dikkat çekicidir. Dolayısıyla bu bitkiler, en son buzul dönemlerinden önce gelişmeye başlayan bir tür davranışı temsil ediyor olabilir. Nikel akümülatörlerinin çoğunun endemizminin olası nedenleri özetlenmiştir.

Reeves vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada son yıllarda Türkiye'nin güneybatısında ultramafik bir alanda yapılan araştırmada, yeni bir tür olan *Bornmuellera kiyakii* Aytaç & Aksoy (Brassicaceae) keşfedilmiş ve tanımlanmıştır. Bu küçük cins içinde yer alan diğer altı taksonun (Arnavutluk, Yunanistan ve Türkiye'den) nikel hiperakümülyasyonunun daha önce belirlenmiş olmasından dolayı, bu yeni tür özel olarak araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bu makalede, *Bornmuellera kiyakii*'nin de bir nikel hiperakümülyatör olduğu; kuru yaprak materyalinde ortalama 8000 mg kg<sup>-1</sup> üzerinde nikel konsantrasyonu gösteren Çamlık yakınında bir popülasyonu rapor edilmektedir. Aynı alanda, Brassicaceae familyasının diğer birkaç üyesinden *Alyssum* L., *Pseudosempervivum* (Boiss.) Grossh. (daha önce *Cochlearia* L.'da) ve *Thlaspi* L.- cinslerinin türleri de nikel hiperakümülyatör olarak davrandığı tespit edilmiştir.

Paçarizi vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, *Bornmuellera dieckii*'deki kimyasal elementlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Endemik bir bitki türü olarak sadece Kosova'da şimdiye kadar sadece Sharri Dağları'ndaki bazı yerleşim yerlerinde bulunmuştur. Aynı lokasyonda ve Aynı zamanda, karşılaştırma için başka bir Balkan endemik bitkisi *Stachys scardica*'yı ayrıca yetiştikleri toprak örneklerini de toplamışlardır. Bitkiler üç parçaya ayırmışlardır: kökler, gövdeler ve yapraklar, standart bir prosedürde hazırlamışlardır. Mikrodalga sindirim sisteminde temizleme, kurutma ve sindirme işlemleri uygulamışlardır.

Bitki örnekleri ve toprak numuneler Alev atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile analiz etmişlerdir. Nikel seviyesi *Bornmuellera dieckii* bitkisindeki kökler, gövdeler ve yapraklar için içerik (mg/kg olarak): 4102, 9713 ve 24295, ancak *Stachys scardica* bitkisinde bu değerler 95.4, 23.8 ve 62.9 idi. Bu *Bornmuellera dieckii* için nikelin biyokonsantrasyon faktörü (BCF) şu şekilde sıralanmıştır: 2 ila 12, ve Translokasyon faktörü (TF) kökten gövdeye için 2.4 ve kökten yaprağa için 5.9' olduğunu tespit etmişlerdir.

Nikolov vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada Brassicaceae familyası 4000 tür içerdiği bilinmektedir. Önemlerinin çok olmasına rağmen, ailedeki ana soylar arasındaki ilişkiler, karşılaştırmalı araştırmaları engellediği için çözümlenmemiş durumdadır. Burada, 63 türü temsil eden 1827 ekzonun (> 940 000 baz) yeni oluşturulmuş hedeflenen zenginleştirme dizisi verilerini ve birlikte şu anda tanınan 52 Brassicaceae kabilesinden 50'sini temsil eden 16 türün dizili genom verilerini kullanarak bir Brassicaceae filogenisini çıkarmışlardır. Örneklerin üçte biri, ailenin geniş taksonomik kapsamını kolaylaştıran herbaryum materyalinden türetmişlerdir. Altı ana dal, Brassicaceae'nin geri kalanına ardışık kardeş gruplar oluşturmuştur. Ayrıca kabileler arasındaki yeni ilişkiler için güçlü bir destek elde etmişlerdir ve daha önce bir kabileye atanmamış 16 taksonun konumunu çözmüşlerdir. Bu filogenetik sonuçların geniş faydası, Brassicaceae'deki basit yaprakları karmaşık yapraklardan ayıran genom çapında ifade imzalarının karşılaştırmalı bir araştırması ile gösterilmiştir. Bu çalışmada, Brassicaceae sistemlerindeki daha fazla ilerleme için kolayca genişletilebilir bir veri seti ve yoğun bir şekilde araştırılan bir bitki grubundaki çoklu özelliklerin geniş bir yelpazedeki karşılaştırmalı çalışmaları için zamanında daha yüksek seviyeli bir filogenetik çerçeve sağlamaktadır.

Beilstein vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada Brassicaceae familyasının evrimsel tarihini tahmin etmek için, kloroplast geni *ndhF* için kabaca 350 cinsten 101'ini ve ailenin 19 kabilesinden 17'sini temsil eden 113 türü örneklenmiştir. Dahil edilen katılımlar, önceki filogenetik çalışmalara göre örneklenen cins sayısını dört kat artırmaktadır. Tutarlılık, olabilirlik ve Bayes yöntemlerini kullanarak genin filogenisini yeniden yapılandırılmış ve filogenetik sonuçları aile için en son kabile sınıflandırmasıyla karşılaştırmak için Shimodaira-Hasegawa testini (S-H testi) kullanmışlardır. Elde edilen filogeni, mevcut sınıflandırmanın dayandığı meyve morfolojisi ve tohum anatomisindeki varyasyonların kritik bir değerlendirmesine izin vermiştir. Ayrıca, *ndhF* filogenisindeki monofiletik

grupları tanımlamak için trikom dallanma modellerinin faydasını incelemek için S-H testini kullanmışlardır. Filogenetik sonuçlarında, 114 grup içi katılımın 97'sinin güçlü bir şekilde desteklenen 21 daldan birine düştüğünü göstermiştir. Bu dallardan bazıları, güçlü ila orta derecede desteklenen monofiletik gruplar halinde gruplandırılabilir. Bu soylardan biri, önceki filogenetik çalışmalarda gözden kaçırılan yeni bir gruplandırma. S-H testi ile 30 farklı evrim senaryosunu karşılaştıran sonuçlar, çalışmada iki veya daha fazla cins tarafından temsil edilen 12 kabileden beşinin, birkaç kabilenin para- veya polifili kurmak için yeterince iyi örneklenmemiş olmasına rağmen, açıkça polifiletik olduğunu göstermiştir. Ek olarak, dallı trikomlar muhtemelen Brassicaceae'de birkaç kez bağımsız olarak evrimleşmiştir, ancak malpighiaceae ve stellate trikomların her birinin tek bir kökeni olabilmektedir.

Beilstein vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada Brassicaceae familyası 338 cinsten 3710 türden, yakın zamanda sınırlandırılmış 25 kabileden ve kloroplast geni *ndhF*'nin filogenetik sonuçlarına dayanan üç ana soydan oluşmuştur. Soyların ve yeni sınırlandırılmış kabilelerin güvenilirliğini değerlendirmek için, daha önce kloroplast geni *ndhF* için örneklenen taksonlar için nükleer fitokrom A (PHYA) geninin yaklaşık 1.8 kb'lik bir bölgesini sıralamışlardır. Tutarlılık, olabilirlik ve Bayes yöntemlerini kullanarak genin filogenisini yeniden yapılandırılmış ve PHYA'dan elde edilen filogenetik sonuçları *ndhF*'den elde edilen bulgularla karşılaştırmak için yaklaşık olarak tarafsız (AU) testini kullanmışlardır. Ayrıca *ndhF* ve PHYA verilerini birleştirdik ve filogeniyi çıkarmak için Bayes karma model yaklaşımını kullanmışlardır. PHYA ve birleşik analizler, *ndhF* ağaçlarında kurtarılanlarla aynı üç büyük soyu kurtarılmış ve bu soylara olan güveni arttırılmıştır. Birleşik ağaç, son zamanlarda sınırlandırılan kabilelerin çoğunun monofili olduğunu doğrulamaktadır (yalnızca Alyseae, Anchonieae ve Descurainieae monofiletik değildir), örneklenen 23 kabileden 13'ü PHYA ağaçlarında monofiletiktir. Filogenetik sonuçlara ek olarak, filogeni boyunca türlerin trikom dallanma morfolojisini belgelenmiş ve AU testini kullanarak farklı trikom morfolojilerinin evrimini araştırmışlardır. Sonuç olarak, dendritik, medifixed ve stellate trikomların Brassicaceae'de muhtemelen birkaç kez bağımsız olarak evrimleştiğini göstermektedir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan *Bornmuellera* Türleri

Bu çalışmada toplam 4 *Bornmuellera* türü materyal olarak kullanılmıştır. *Bornmuellera* türleri çizelge 3.1’de gösterilen lokalitelerden toplanmıştır. Çalışma materyalini oluşturan 4 *Bornmuellera* türünü (*Bornmuellera cappadocia*, *Bornmuellera glabrescens*, *Bornmuellera kiyakii*, *Bornmuellera angustifolia*) Akdeniz, İç Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde yayılış gösterdikleri lokasyonlar Çizelge 3.1.’de verilmiştir. *Bornmuellera* türleri, Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümünden Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY tarafından toplanmış ve teşhis edilmiştir. Tespit edilen lokalitelerden toplanan *Bornmuellera* türlerinin teşhislerinde Davis’in editörü olduğu Türkiye Florası’nın 1. cildinde (Davis, 1965) yer alan ve Hedge tarafından (1965) düzeltilip revizyon çalışması yapılmış olan kaynaktan yararlanılmıştır. Toplanan bitki materyallerinin genç yaprakları DNA izolasyonu için silika jeller içerisine alınarak laboratuvara getirilmiştir. Deneyle silika jeller içerisinde korumada olan bitki örneklerini kullanarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan *Bornmuellera* türleri ve toplandığı lokaliteler

Bitki Materyali	Toplandığı Lokalite/Tarih/Toplayan Kişi
<i>Bornmuellera cappadocica</i>	Sivas; Zara, Armutçayırı köyü, Beşağaç yaylası, step, 1650 m, 15.07.2016, Paksoy 1590
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	Adana; Kamışlı, Mazmılı dağı, 2000 m, 20.07.2016, Paksoy 1591
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	Konya; Derebucak, Çamlık kasabası, Kızıldağ, step, 1450 m, 28.05.2016, Paksoy 1582
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	Erzincan; Kemaliye, Sırakonaklar köyü, Mazbanbaşı mevki, step, 1600 m, 10.06.2016, Paksoy 1584



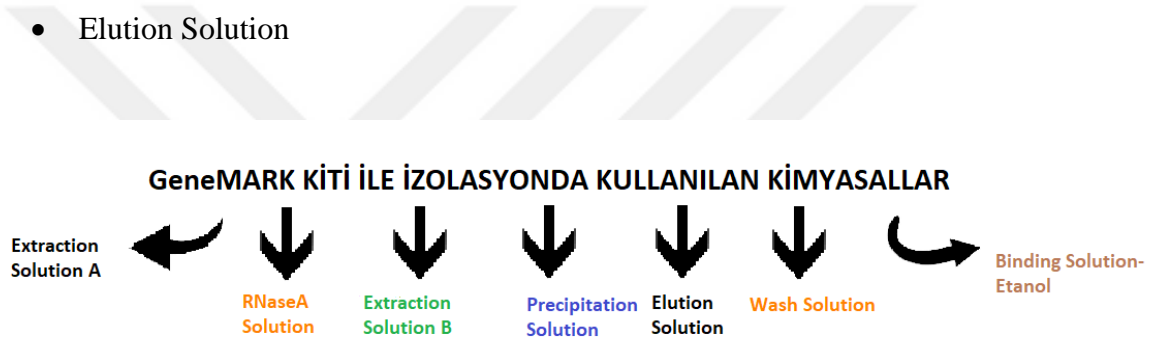
Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan *Bornmuellera* türlerinin toplandığı iller

### 3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

#### 3.1.2.1. Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar Şekil 3.2’de verilmiştir

- Extraction Solution A
- Extraction Solution B
- RNaseA Solution
- Precipitation Solution
- Binding Solution-Etanol
- Wash Solution
- Elution Solution



Şekil 3. 2. gDNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

#### 3.1.2.2. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar

PCR reaksiyonlarında gDNA, Master Mix (5X) (Katolog numarası: DP022), distile su ve primerler kullanılan kimyasallardır. PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerden stok hazırlamak için yaklaşık 15 sn 12.000 rpm’de (dakikadaki döngü sayısı) santrifüj yapılarak kuru çökeltinin tüpün dibinde toplanması sağlanmıştır. Daha sonra her bir primer sulandırılarak stoklarımız hazır hale getirilmiştir.

#### 3.1.3. PCR Amplifikasyonunda Kullanılacak Primerler ve Özellikleri

Bitkilerin DNA izolasyonunda, Bitki Genomik DNA İzolasyon Kiti (Hibrigen) kullanılmıştır. Kit içeriği ve miktarları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Kloroplast (cpDNA) *trnL* intron, *trnL-F*, *rbcL* ve *trnQ-rps 16* bölgesine ait primerlerin dizilimi

PRİMELELER	BAZ DİZİLİMİ (5'-3')	KAYNAK
<i>trnLe</i> (F)	5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trnFf</i> (R)	5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trnc</i> (F)	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'	Taberlet vd., 1991
<i>trnd</i> (R)	5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3'	Taberlet vd., 1991
<i>rbcLa</i> (F)	5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3'	Levin vd., 2003
<i>rbcLa</i> (R)	5'-GTAAAATCAAGTCCACCRCG-3'	Kress ve Erickson, 2007
<i>rps16-trnQ</i> (F)	5'-GTTGCTTTYTACCCTCACATCGTTT-3'	Shaw vd., 2007
<i>rps16-trnQ</i> (R)	5'-GCGTGGCCAAGYGGTAAGGC-3'	Shaw vd., 2007

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. gDNA İzolasyonu

Laboratuvara getirilen yaprak örnekleri için genomik saf DNA elde etmek için Ticari kit GENMARK kullanılarak hem saf DNA hem de PCR reaksiyonumuzu engellemeyecek bir gDNA izolasyonu gerçekleştirilecektir. GENMARK ticari kit DNA izolasyon protokolü aşamaları;

- 1- Bitki dokusu (0.9 gr) havan yardımıyla toz haline gelene kadar ezilmiştir. Ezilen materyali 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpe aktarılmıştır.
- 2- Üzerine 360 µL Extraction Solution A daha sonra 40 µL Extraction Solution B ve ardından 4 µL RNase A solution eklenir ve 5-10 saniye vortexlenmiştir.



- 3- 20 dk su banyosunda 65 °C’de bekletilir. Daha sonra 130 µL Precipitation Solution eklenmiştir ve tüpü elle ters-yüz ederek karıştırılmıştır ve 5 dk buzda inkübe edilmiştir. (Solüsyon deterjanlar, proteinler, polisakkaritler ve sekonder metabolitlerin çökmesiyle beyaz kıvamlı bir yapı almıştır).
- 4- Oda sıcaklığında (14-16.000 x g)’de 5 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant’ı temiz 2 ml’lik Collection Tube’a içine Spin-Filter konulmuş tüpe konmuştur ve 2 dk en yüksek devirde santrifüjlenmiştir. (Dokular topaklanır ve hücre artıkları Spin-Filter’da pelet oluşturulmuştur).
- 5- Filtrate’ı yeni 1.5 ml’lik bir mikrosantrifüj tüpüne alınır. 1.5 hacimlik Binding Solution-Ethanol ilave edilmiştir ve pipetaj yapıp karıştırılmıştır.
- 6- Karışımın 650 µL’lik kısmını Spin-Colunum ilave edilmiş Collectiontube’a aktarılmıştır ve 1 dk en yüksek devirde (14-16.000 x g) santrifüjlenmiştir ve filtrate atılmıştır. Sonra 700 µL Wash Solution ilave edilerek en yüksek hızda etanol kalıntılarında kurtulmak için 5 dk santrifüjlenmiştir.
- 7- Spin-Colunum’u yeni mikrosantrifüj tüpüne transfer edilmiştir ve önceden ısıtılmış (60-65 °C) yaklaşık 100-200 µL Elution Solution ya da H<sub>2</sub>O (pH 7.0-8.5) kolona ilave edilir ve 1-2 dakika bekletilmiştir. En yüksek hızda 1 dk DNA’nın eldesi için santrifüjlenir. Elde edilen DNA -20 °C ‘de saklanmıştır.

### 3.2.2. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları

PCR amplifikasyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.3.’ de verilmiştir.

Çizelge 3. 3. PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar

KİMYASAL ADI	MİKTARI
DNA	2 µl
PRİMER	1 µl
dH <sub>2</sub> O	17 µl
Master Mix	5 µl
TOPLAM	25 µl

### 3.2.3. Çalışmada Uygulanan PCR Programları

Kullanılan PCR programları çalışmamız ile ilgili önceden yapılmış çalışmalardan referans makalelerden bilgililer edinilerek kullandığımız primerlerin sıcaklık TM değerlerine uygun bir biçimde her bir primer ayrı ayrı oluşturulmuştur. Bu değerler çizelge: 3.4, 3.5, 3.6, 3.7’ de verilmiştir.

Çizelge 3. 4. *trnL* intron primerleri için uygulanacak PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön ısıtma	94°C / 2 dakika	1
1. Basamak	94°C / 30 saniye	35
2. Basamak	50 °C/ 30 saniye	35
3. Basamak	72 °C/ 90 saniye	35
4. Basamak	72 °C/ 8 dakika	1

Çizelge 3. 5. *trnL*-F primerleri için uygulanacak PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön ısıtma	94°C / 5 dakika	1
1. Basamak	94°C / 30 saniye	35
2. Basamak	50 °C/ 30 saniye	35
3. Basamak	72 °C/ 1 dakika	35
4. Basamak	72 °C/ 10 dakika	1

Çizelge 3. 6. *trnQ-rps16* primerleri için uygulanacak PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön ısıtma	80°C / 5 dakika	1
1. Basamak	95°C / 1 dakika	30
2. Basamak	50 °C/ 1 dakika	30
3. Basamak	65 °C/ 34 dakika	30
4. Basamak	65 °C/ 5 dakika	1

Çizelge 3. 7. *rbcL* primerleri için uygulanacak olan PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön ısıtma	95°C / 4 dakika	1
1. Basamak	94°C / 30 saniye	35
2. Basamak	52 °C/ 30 saniye	35
3. Basamak	72 °C/ 2 dakika	35
4. Basamak	72 °C/ 10 dakika	1

#### 3.2.4. PCR Uygulaması

Polimeraz zincir reaksiyonu işlemini gerçekleştirmek için toplam 25 µL hacmi olacak biçimde hazırlanmıştır. En son enzim eklenen karışım ve çalışma anında Polimeraz zincir reaksiyonu komponentleri düşük sıcaklıklı ortamda saklanmıştır.

#### 3.2.5. PCR Uygulamalarının Tekrarlanabilirliği ve Agaroz Jel Elektroforezi ve Tamponları

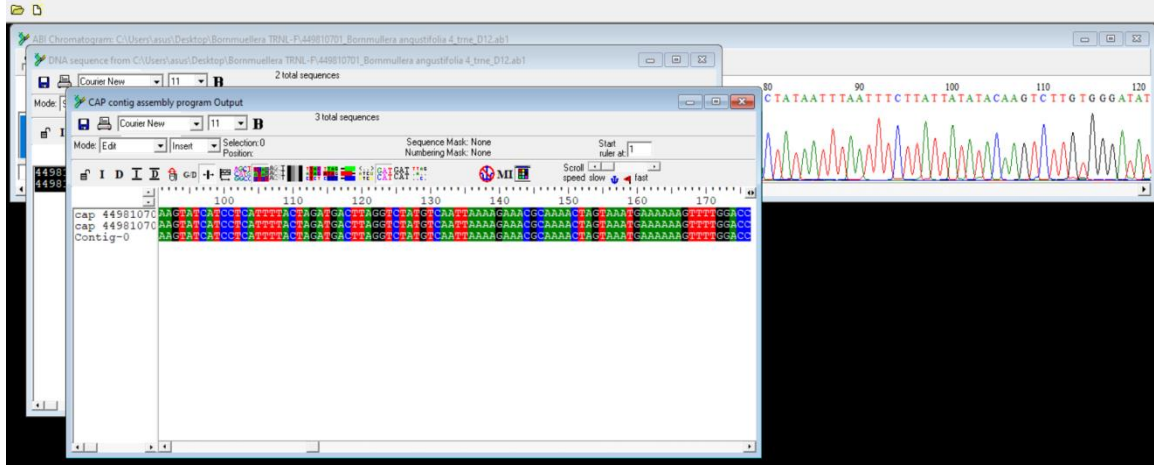
DNA fragmanlarının ayrılması, tespiti ve saflaştırılması için kullanılan yöntem agaroz jel elektroforez yöntemidir. Bilim adamları, DNA moleküllerinin ağırlıklarının zıt oranlarda olduğunu bildirmektedir (Griffin ve Griffin 1993). Genellikle jel elektroforezinde boyutlandırılmış etiketli DNA ile kullanılır. Böylece, bilinmeyen büyüklükteki DNA moleküllerinin boyutu basitçe belirlenebilir. DNA bantları jel içinde etidyum bromür (EtBr)

ile boyanmıştır. Dolayısıyla bu casus DNA moleküllerini UV ışığı altında kolay ve net bir şekilde görmemizi sağlar. Polimeraz zincir reaksiyonu neticesinde ortaya çıkan bantların incelenip gözlemlenebilmesi için %0,8'lik agaroz jel elektroforezi işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi gerçekleştirmek için öncelikle 0.8 gr agaroz tartılmıştır. Daha sonra 100 mL 0.5X TBE (Tris-Borik EDTA) tamponu içinde, mikrodalga fırında 15-30 sn içinde 100 °C de kaynatılarak çözülme işlemi gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan karışım 50°C'ye kadar soğutulmuş ve içine 1.2 µL EtBr eklenmiştir. Tampon, tarakları çalışmadan önce yerleştirilmiş jel kasetine yavaş bir şekilde dökülmüştür ve polimerizasyon işlemi için 40 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Jel polimerleştikten sonra kasetten taraklar yavaş bir şekilde tarakların oluşturduğu kuyucuklara zarar vermeyecek şekilde çekerek çıkartılmıştır. Hazırlanan jel, elektroforez tankına aktarıldıktan sonra jel yüzeyini kapsayacak biçimde 0.5X TBE tamponuyla doldurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu adımdan sonra tarakların meydana getirdiği kuyucuklar tampon içine yerleştirilerek bölgelerin tamponla dolması sağlanmıştır. Bu adımlardan sonra 5 µL PCR ürünü, 1 µL yükleme boyası (6X DNA loading dye) ilave edilerek boyanmış ve kuyucuklara mikropipet ile yüklenmesi gerçekleştirilmiştir. PCR ürününün boyutlarını belirlemek için 5 µL DNA büyüklük belirleyici (1 kb DNA ladder) boş bir kuyucuğa yüklenmiştir. Örnekler 100 voltta 35 dk yürütüldükten sonra kullanılan jel, jel görüntüleme cihazına aktarıldı. UV ışığı altında bantlar incelenmiş ve jel görüntüleme cihazının bilgisayar programı ve fotoğraf makinesi gibi çeşitli tekniklerle fotoğrafları çekilmiş ve veriler kaydedilmiştir. Bu adımlardan sonra 5 µL PCR ürünü, 1 µL yükleme boyası (6X DNA loading dye) pipetaj tekniği uygulanarak ilave edilmiştir ve boyama işlemi başlatılmıştır. PCR ürünlerinin boyutlarını belirleyebilmek için 5 µL DNA büyüklük belirleyici (1 kb DNA ladder) kuyucukların boş bırakılan ilk kuyucuğa yüklenmiştir. DNA örneklerine 100 voltta 60 dk boyunca elektrik akımı ile yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu adımlardan sonra kullanılan jel, jel görüntüleme cihazına taşınmış ve fotoğraf makinesi ve bilgisayar programları gibi çeşitli teknikler uygulanarak fotoğrafları çekilmiş ve veriler kaydedilmiştir.

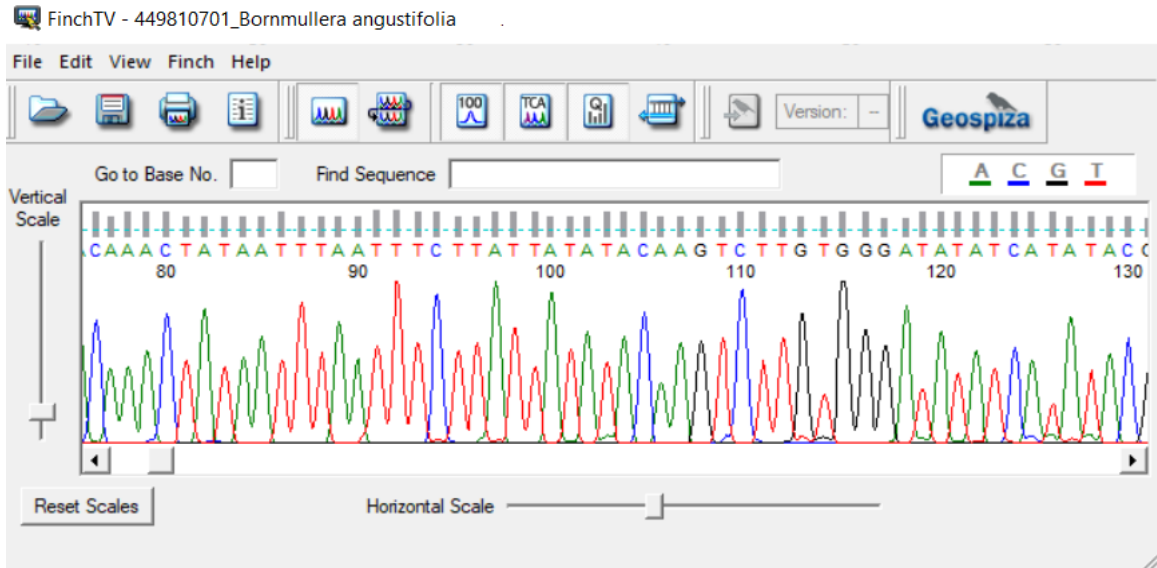
### 3.2.6. Dizileme ve Dizi Analizi

*trnL-F*, *trnL* intron, *rbcl* ve *trnQ-rps16* primerleri ile *Bornmuellera* türlerine ait çoğaltılan bölgelerin DNA dizilerini elde etmek için TRİOGEN (İstanbul) firmasından hizmet alımı işlemi gerçekleştirilmiştir. *ABI* prism formatında elde edilen veriler (Forward ve Reverse) Finch TV ve BioEdit (Hall, 1999) programlarını kullanılarak DNA dizileri işlenmiş ve

contig dizileri elde edilmiştir. Diziler FASTA formatına dönüştürülmek için Microsoft Office Word programına aktarılmıştır ve hizalama işlemi MEGA 6.0 (Tamura vd., 2013) programında oluşturulmuştur.



Şekil 3. 3. *Bornmuellera* türlerine ait örnek Bioedit görüntüsü

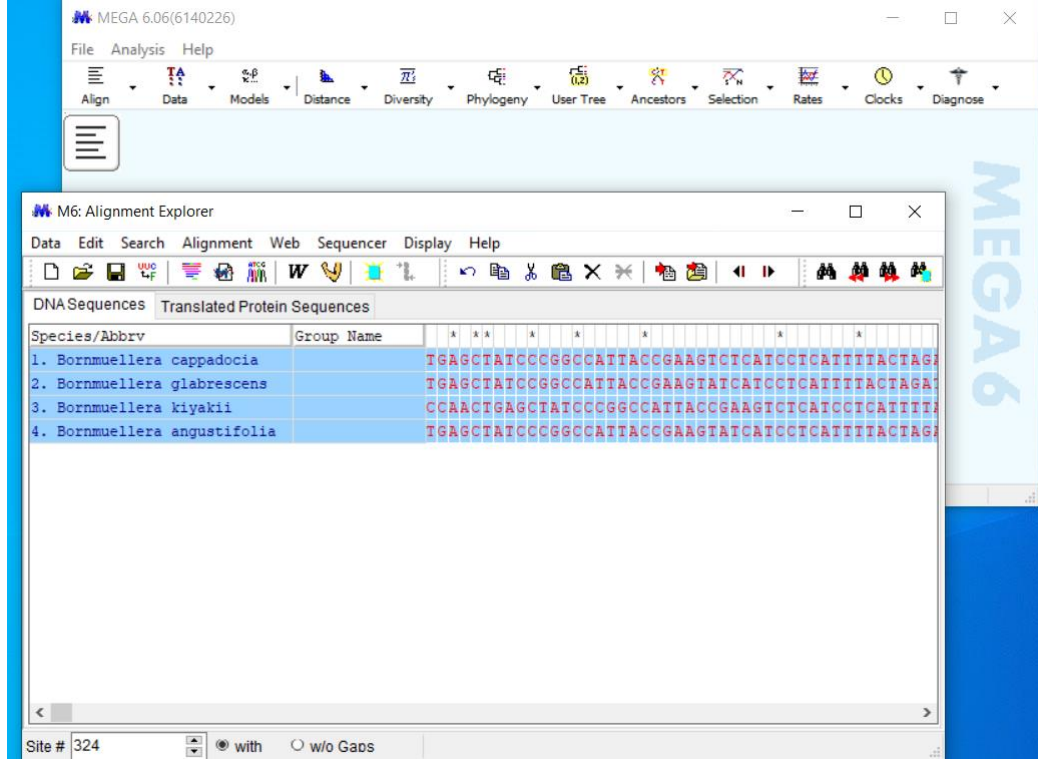


Şekil 3. 4. *Bornmuellera* türlerine ait örnek FinchTV görüntüsü

### 3.2.7. Filogenetik Analiz

FASTA formatına dönüştürülen *Bornmuellera* DNA dizileri MEGA 6.0 programı kullanılarak filogenetik analiz işlemleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları kapsamında nükleotid kompozisyonu, A + T ve G + C oranları, türler arası genetik uzaklık verileri, Tajima's Neutrality test ve MCL (transisyon ve transversiyon) değerleri hesaplanmıştır.

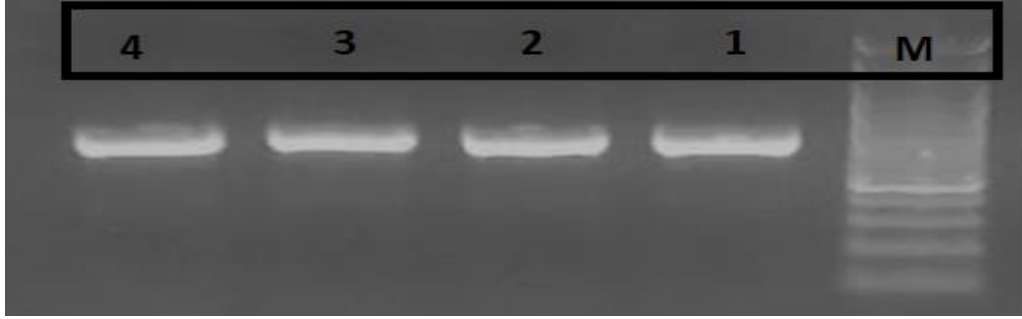
*Bornmuellera* türleri arasındaki akrabalık ilişkilerini meydana getiren karakter temelli yöntemlerden biri olan Maximum Likelihood (ML) metodu kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. MEGA 6.0 programı kullanılarak Maximum likelihood estimate of substitution matrix ve Tajima's neutrality test analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 5. *Bornmuellera* türlerine ait örnek MEGA 6.0 görüntüsü

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Bornmuellera* Türlerine ait *trnL* intron Jel Görüntüleri

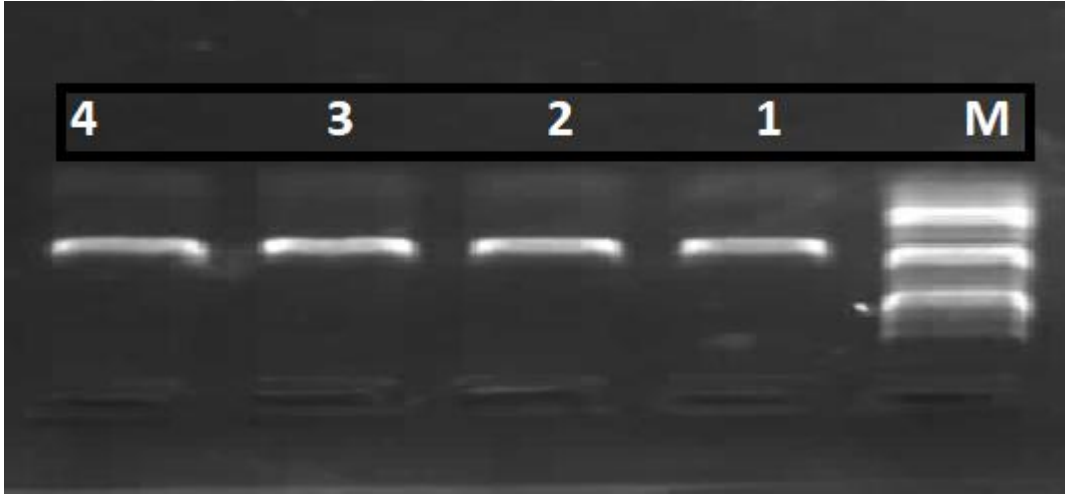


Şekil 4. 1. *Bornmuellera* türlerinin *trnL* intron bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Bornmuellera cappadocia*, (Sivas) 2: *Bornmuellera glabrescenses*, (Adana)

3: *Bornmuellera kiyakii*, (Konya) 4: *Bornmuellera angustifolia*, (Erzincan)

### 4.2. *Bornmuellera* Türlerine ait *trnL-F* Jel Görüntüleri

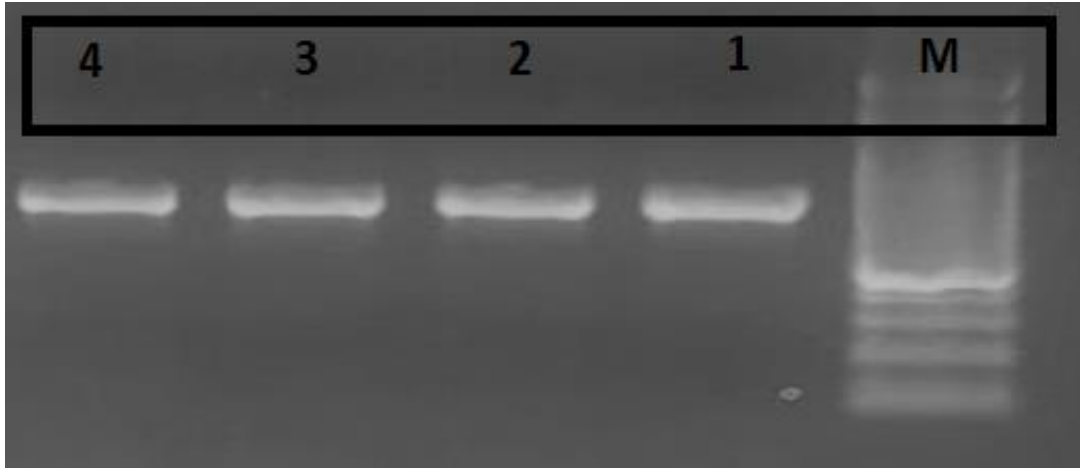


Şekil 4. 2. *Bornmuellera* Türlerine ait *trnL-F* ait jel fotoğrafı.

M: Markör, 1: *Bornmuellera cappadocia*, (Sivas) 2: *Bornmuellera glabrescenses*, (Adana)

3: *Bornmuellera kiyakii*, (Konya) 4: *Bornmuellera angustifolia*, (Erzincan)

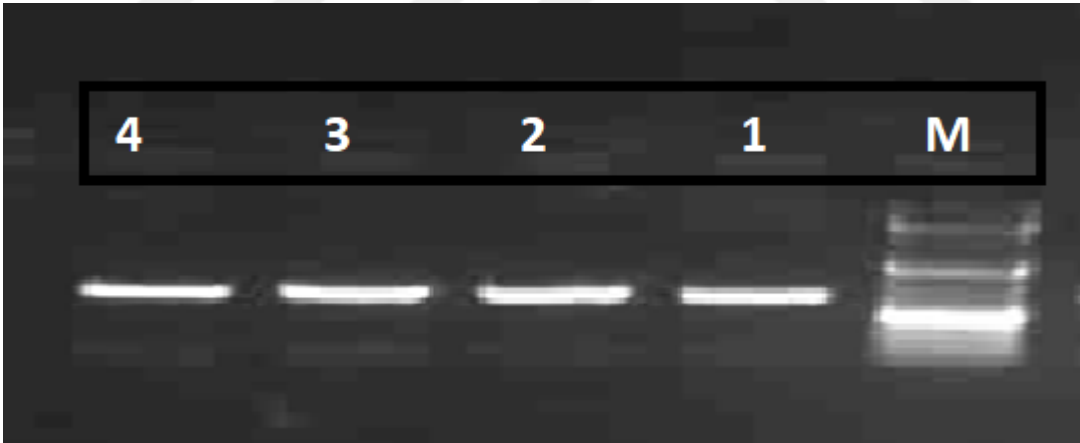
#### 4.3. *Bornmuellera* Türlerine ait *rbcL* Jel Görüntüleri.



Şekil 4. 3. *Bornmuellera* türlerinin *rbcL* bölgesine ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Bornmuellera cappadocia*, (Sivas) 2: *Bornmuellera glabrescenses*, (Adana)  
3: *Bornmuellera kiyakii*, (Konya) 4: *Bornmuellera angustifolia*, (Erzincan)

#### 4.4. *Bornmuellera* Türlerine ait *trnQ-rps16* Jel Görüntüleri



Şekil 4. 4. *Bornmuellera* Türlerine ait *trnQ-rps16* ait jel fotoğrafı

M: Markör, 1: *Bornmuellera cappadocia*, (Sivas) 2: *Bornmuellera glabrescenses*, (Adana)  
3: *Bornmuellera kiyakii*, (Konya) 4: *Bornmuellera angustifolia*, (Erzincan)



#### 4.5. Nükleotid Kompozisyonlarının Belirlenmesi

*Bornmuellera* türlerine Ait *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* bölgelerinin nükleotid kompozisyon değerleri Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de gösterilmektedir.

Çizelge 4. 1. *Bornmuellera* türlerine ait *trnL-F* bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri

Popülasyon	<i>trnLF</i> (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Bornmuellera cappadocia</i>	331	%42.3	%31.1	%14.8	%11.8	%73.4	%26.6
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	332	%42.2	%31.6	%14.5	%11.7	%73.8	%26.2
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	343	%41.7	%30.6	%15.2	%12.5	%72.3	%27.7
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	324	%42.0	%31.8	%15.1	%11.1	%73.8	%26.2

*Bornmuellera* türlerine ait nükleotid kompozisyonu incelendiğinde en fazla baz uzunluğu 343 bp ile *Bornmuellera kiyakii* türüdür. En az baz uzunluğu 324 bp ile *Bornmuellera angustifolia* türü olduğu tespit edilmiştir. Adenin + Timin ve Guanin + Sitozin miktarları incelendiğinde *Bornmuellera glabrescens* ve *Bornmuellera angustifolia* türleri %73.8 değerle en fazla Adenin + Timin miktarını bulundururken en az Guanin + Sitozin miktarını da %26.2 değerle buundurmaktadırlar. *Bornmuellera kiyakii* türü %27.7 değerle en fazla Guanin+Sitozin miktarını bulundururken, %72.3 değerle en az Adenin + Timin miktarını da bulundurduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. 2. *Bornmuellera* türlerine ait *trnL*-intron bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri

Popülasyon	<i>trnL</i> intron (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Bornmuellera cappadocia</i>	346	%26.6	%36.1	%16.5	%20.8	%62.7	%37.3
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	321	%36.1	%26.8	%17.1	%19.9	%62.9	%37.0
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	342	%36.5	%27.2	%16.7	%19.6	%62.7	%37.3
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	342	%27.8	%35.1	%17.3	%19.9	%62.9	%37.2

*Bornmuellera* türlerine ait nükleotid kompozisyonu incelendiğinde en az baz uzunluğu 321 bp ile *Bornmuellera glabrescens* türüdür. En fazla baz uzunluğu 346 bp ile *Bornmuellera cappadocia* türü olduğu tespit edilmiştir. Adenin + Timin ve Guanin + Sitozin miktarları incelendiğinde *Bornmuellera glabrescens* türü %62.9 değerle en fazla Adenin + Timin miktarını bulundururken en az Guanin + Sitozin miktarını da %37.0 değerle buundurmaktadır. *Bornmuellera kiyakii* türü %37.3 değerle en fazla Guanin + Sitozin miktarını bulundururken, en az %62.7 değerle Adenin + Timin miktarını da bulundurduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. 3. *Bornmuellera* türlerine ait *rbcL* bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri

Popülasyon	<i>rbcL</i> (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Bornmuellera cappadocia</i>	511	%27.0	%28.4	%22.3	%22.3	%55.4	%44.6
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	438	%27.4	%27.2	%23.3	%22.1	%54.6	%45.4
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	531	%27.3	%28.2	%21.8	%22.6	%55.5	%44.4
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	577	%26.5	%29.1	%22.0	%22.4	%55.6	%44.4

*Bornmuellera* türlerine ait nükleotid kompozisyonu incelendiğinde en az baz uzunluğu 438 bp ile *Bornmuellera glabrescens* türüdür. En fazla baz uzunluğu 577 bp ile *Bornmuellera angustifolia* türü olduğu tespit edilmiştir. Adenin + Timin ve Guanin+Sitozin miktarları incelendiğinde *Bornmuellera angustifolia* türü %55.8 değerle en fazla Adenin + Timin miktarını bulundururken en az Guanin + Sitozin miktarını da %44.2 değerle bulundurmaktadır. *Bornmuellera glabrescens* türü %45.4 değerle en fazla Guanin + Sitozin miktarını bulundururken, en az %54.6 değerle Adenin + Timin miktarını da bulundurduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. 4. *Bornmuellera* türlerine ait *trnQ-rps16* bölgesinin A, T, G, C baz içerikleri

Popülasyon	<i>trnQ-rps16</i> (bp)	A (%)	T (%)	G (%)	C (%)	A+T (%)	G+C (%)
<i>Bornmuellera cappadocia</i>	322	%34.5	%31.7	%15.8	%18.0	%66.2	%33.8
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	312	%37.2	%32.4	%15.1	%15.4	%69.6	%30.5
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	353	%37.9	%31.9	%13.4	%16.8	%69.8	%30.2
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	282	%34.8	%32.0	%16.1	%17.1	%66.8	%33.2

*Bornmuellera* türlerine ait nükleotid kompozisyonu incelendiğinde en az baz uzunluğu 282 bp ile *Bornmuellera angustifolia* türüdür. En fazla baz uzunluğu 353 bp ile *Bornmuellera kiyakii* türü olduğu tespit edilmiştir. Adenin + Timin ve Guanin + Sitozin miktarları incelendiğinde *Bornmuellera glabrescens* türü %69.8 değerle en fazla Adenin + Timin miktarını bulundururken en az Guanin+Sitozin miktarını da %30.2 değerle bulundurmaktadır. *Bornmuellera cappadocia* türü %33.8 değerle en fazla Guanin+Sitozin miktarını bulundururken, en az %66.2 değerle Adenin + Timin miktarını da bulundurduğu belirlenmiştir.

#### 4.6. Genetik Uzaklık Matrislerinin Belirlenmesi

*Bornmuellera* türlerine Ait *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* bölgelerinin genetik uzaklık matrisi değerleri Çizelge 4.5, 4.6, 4.7, 4.8’de gösterilmektedir.

Çizelge 4. 5. *Bornmuellera* türlerine ait *trnL-F* bölgesinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4
<i>Bornmuellera cappadocia</i>				
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	0.025			
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	0.025	0.038		
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	0.025	0.012	0.038	

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türleri arası genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Birbirlerine en yakın ve en uzak genetik mesafesi olan türler tespit edilmiştir. Türler arası en yakın mesafe 0.012 değeriyle *Bornmuellera glabrescens* ile *Bornmuellera angustifolia* türleri olduğu belirlenmiştir. Türler arası en uzak mesafe 0.038 değeriyle *Bornmuellera glabrescens* ile *Bornmuellera kiyakii* olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 6. *Bornmuellera* türlerine ait *trnL* intron bölgesinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4
<i>Bornmuellera cappadocia</i>				
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	0.029			
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	0.013	0.026		
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	0.026	0.003	0.023	

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türleri arası genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Birbirlerine en yakın ve en uzak genetik mesafesi olan türler tespit edilmiştir. Türler arası en yakın mesafe 0.003 değeriyle *Bornmuellera glabrescens* ile *Bornmuellera angustifolia* türleri olduğu belirlenmiştir. Türler arası en uzak mesafe 0.029 değeriyle *Bornmuellera glabrescens* ile *Bornmuellera cappadocia* olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 7. *Bornmuellera* türlerine ait *rbcL* bölgesinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4
<i>Bornmuellera cappadocia</i>				
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	0.002			
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	0.005	0.005		
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	0.005	0.005	0.005	

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türleri arası genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Birbirlerine en yakın ve en uzak genetik mesafesi olan türler tespit edilmiştir. Türler arası en yakın mesafe 0.002 değeriyle *Bornmuellera glabrescens* ile *Bornmuellera cappadocia* türü ile olduğu belirlenmiştir. Türler arası en uzak mesafe 0.005 değeriyle diğer *Bornmuellera* türleri eşit seviyede uzaklık gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 8. *Bornmuellera* türlerine ait *trnQ-rps16* bölgesinin genetik uzaklık matrisi

	1	2	3	4
<i>Bornmuellera cappadocia</i>				
<i>Bornmuellera glabrescens</i>	0.044			
<i>Bornmuellera kiyakii</i>	0.022	0.037		
<i>Bornmuellera angustifolia</i>	0.052	0.044	0.044	

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türleri arası genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Birbirlerine en yakın ve en uzak genetik mesafesi olan türler tespit edilmiştir. Türler arası en yakın mesafe 0.022 değeriyle *Bornmuellera kiyakii* ile *Bornmuellera cappadocia* türü ile olduğu belirlenmiştir. Türler arası en uzak mesafe 0.052 değeriyle *Bornmuellera angustifolia* ile *Bornmuellera cappadocia* olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.7. Tajma's Neutrality Test Sonuçları

*Bornmuellera* türlerine ait Tajma's Neutrality Test sonuçları Çizelge 4.9., 4.10., 4.11., 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4. 9. Tajma's Neutrality Test *trnL-F* Dizileri Değerleri

No.Of sequences “m”	No.of segregating Sites “S”	$p_s = S/n$	$\Theta = p_s/a_1$	nucleotide diversity “ $\pi$ ”	Tajima test statistic
4	15	0.046269	0.025253	0.026749	0.602519

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türlerinin *trnL-F* dizilerine dayalı yapılan Tajma's Neutrality Test (Tajima, 1989); dizilerin sayısı (m) 0.026749'luk nükleotid çeşitliliğini ( $\pi$ ) ortaya koyan bir ayrılma bölgesi (S) vermiştir.

Çizelge 4. 10. Tajma's Neutrality Test *trnL* intron Dizileri Değerleri

No.Of sequences “m”	No.of segregating Sites “S”	$p_s = S/n$	$\Theta = p_s/a_1$	nucleotide diversity “ $\pi$ ”	Tajima test statistic
4	10	0.032051	0.017483	0.019765	1.306267

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türlerinin *trnL* intron dizilerine dayalı yapılan Tajma's Neutrality Test (Tajima, 1989); dizilerin sayısı (m) 0.019765'lik nükleotid çeşitliliğini ( $\pi$ ) ortaya koyan bir ayrılma bölgesi (S) vermiştir.



Çizelge 4. 11. Tajma's Neutrality Test *rbcL* Dizileri Değerleri

No.Of sequences “m”	No.of segregating Sites “S”	$\rho_s = S/n$	$\Theta = \rho_s/a_1$	nucleotide diversity “ $\pi$ ”	Tajima test statistic
4	3	0.006849	0.003736	0.004186	1.089763

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türlerinin *rbcL* dizilerine dayalı yapılan Tajma's Neutrality Test (Tajima, 1989); dizilerin sayısı (m) 0.004186'lık nükleotid çeşitliliğini ( $\pi$ ) ortaya koyan bir ayrılma bölgesi (S) vermiştir.

Çizelge 4. 12. Tajma's Neutrality Test *trnQ-rps16* Dizileri Değerleri

No.Of sequences “m”	No.of segregating Sites “S”	$\rho_s = S/n$	$\Theta = \rho_s/a_1$	nucleotide diversity “ $\pi$ ”	Tajima test statistic
4	20	0.071174	0.038822	0.039146	0.085430

MEGA 6.0 programı kullanılarak *Bornmuellera* türlerinin *trnQ-rps16* dizilerine dayalı yapılan Tajma's Neutrality Test (Tajima, 1989); dizilerin sayısı (m) 0.039146'lık nükleotid çeşitliliğini ( $\pi$ ) ortaya koyan bir ayrılma bölgesi (S) vermiştir.

#### 4.8. İkame Modeli ve Oranlarının Belirlenmesi

*Bornmuellera* türlerine ait ikame modeli ve oranları Çizelge 4.13., 4.14., 4.15., 4.16. 'da verilmiştir.

Çizelge 4. 13. *Bornmuellera* türlerinin *trnL-F* bölgesi ikame oranları

	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>G</b>	<b>C</b>
<b>A</b>	-	11.61	4.28	1.54
<b>T</b>	15.26	-	5.61	5.55
<b>G</b>	15.26	15.22	-	5.55
<b>C</b>	4.24	11.61	4.28	-

İkame modeli ve oranları Tamura ve Nei (1993) modeli altında tahmin edilmiştir. Anlık  $r$ 'nin göreceli değerleri, değerlendirilirken dikkate alınmalıdır. Kolaylık olması açısından,  $r$  değerlerinin toplamı 100'e eşit yapılmıştır. Farklı geçiş ikamelerinin oranlarından daha yüksek bulunan geçişli ikame oranları koyu olarak gösterilmiştir ve çapraz ikamelerin oranları italik olarak verilmiştir. Nükleotid frekansları A = %41,59, T/U = %31,64, C = %11,65 ve G = %15,12'dir. ML değerlerini tahmin etmek için otomatik olarak bir ağaç topolojisi hesaplanmıştır. Bu hesaplama için maksimum olasılık 0.268 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4. 14. *Bornmuellera* türlerinin *trnL* intron bölgesi ikame oranları

	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>G</b>	<b>C</b>
<b>A</b>	-	9.68	5.45	4.99
<b>T</b>	7.13	-	12.09	4.63
<b>G</b>	7.13	21.46	-	4.63
<b>C</b>	7.68	9.68	5.45	-

İkame modeli ve oranları Tamura ve Nei (1993) modeli altında tahmin edilmiştir. Anlık r'nin göreceli değerleri, değerlendirilirken dikkate alınmalıdır. Kolaylık olması açısından, r değerlerinin toplamı 100'e eşit yapılmıştır. Farklı geçiş ikamelerinin oranlarından daha yüksek bulunan geçişli ikame oranları koyu olarak gösterilmiştir ve çapraz ikamelerin oranları italik olarak verilmiştir. Nükleotid frekansları A = %26.52, T/U = %35.98, C = %20.27 ve G = %17,23'dir. ML değerlerini tahmin etmek için otomatik olarak bir ağaç topolojisi hesaplanmıştır. Bu hesaplama için maksimum olasılık 0.857 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4. 15. *Bornmuellera* türlerinin *rbcL* ikame oranları

	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>G</b>	<b>C</b>
<b>A</b>	-	4.92	4.01	16.69
<b>T</b>	4.91	-	12.48	4.23
<b>G</b>	4.91	15.3	-	4.23
<b>C</b>	19.38	4.92	4.01	-

İkame modeli ve oranları Tamura ve Nei (1993) modeli altında tahmin edilmiştir. Anlık r'nin göreceli değerleri, değerlendirilirken dikkate alınmalıdır. Kolaylık olması açısından, r değerlerinin toplamı 100'e eşit yapılmıştır. Farklı geçiş ikamelerinin oranlarından daha yüksek bulunan geçişli ikame oranları koyu olarak gösterilmiştir ve çapraz ikamelerin oranları italik olarak verilmiştir. Nükleotid frekansları A = %27,17, T/U = %27,23, C = %22,20 ve G = %23,40'dır. ML değerlerini tahmin etmek için otomatik olarak bir ağaç topolojisi hesaplanmıştır. Bu hesaplama için maksimum olasılık 1.755 olarak hesaplanmıştır.

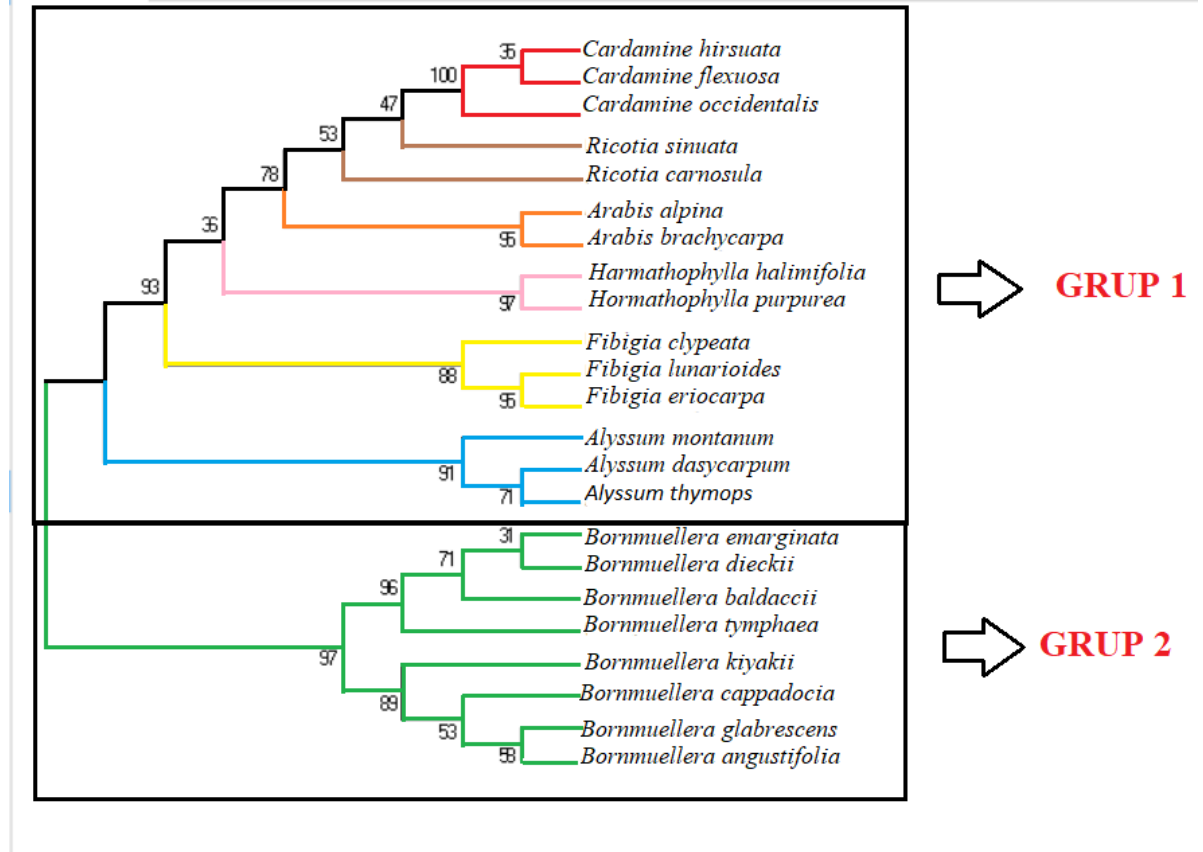
Çizelge 4. 16. *Bornmuellera* türlerinin *trnQ-rps16* bölgesi ikame oranları

	<b>A</b>	<b>T</b>	<b>G</b>	<b>C</b>
<b>A</b>	-	8.92	4.72	4.88
<b>T</b>	10.05	-	9.48	3.93
<b>G</b>	10.05	17.93	-	3.93
<b>C</b>	12.47	8.92	4.72	-

İkame modeli ve oranları Tamura ve Nei (1993) modeli altında tahmin edilmiştir. Anlık r'nin göreceli değerleri, değerlendirilirken dikkate alınmalıdır. Kolaylık olması açısından, r değerlerinin toplamı 100'e eşit yapılmıştır. Farklı geçiş ikamelerinin oranlarından daha yüksek bulunan geçişli ikame oranları koyu olarak gösterilmiştir ve çapraz ikamelerin oranları italik olarak verilmiştir. Nükleotid frekansları A = %36,39, T/U = %32,30, C = %17,08 ve G = %14,23'tür. ML değerlerini tahmin etmek için otomatik olarak bir ağaç topolojisi hesaplanmıştır. Bu hesaplama için maksimum olasılık 0.701 olarak hesaplanmıştır.

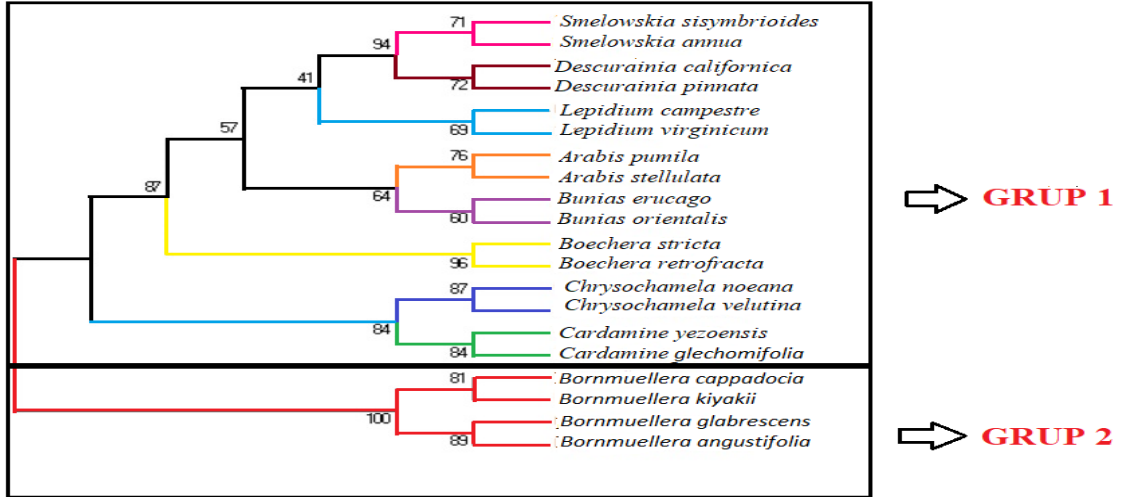
#### 4.9. Filogenetik Ağaçlar

*Bornmuellera* türlerinin Maksimum Likelihood analizine göre oluşan *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* bölgelerine ait filogenetik ağaçlar Şekil 4.5., 4.6., 4.7., 4.8.'de verilmiştir.



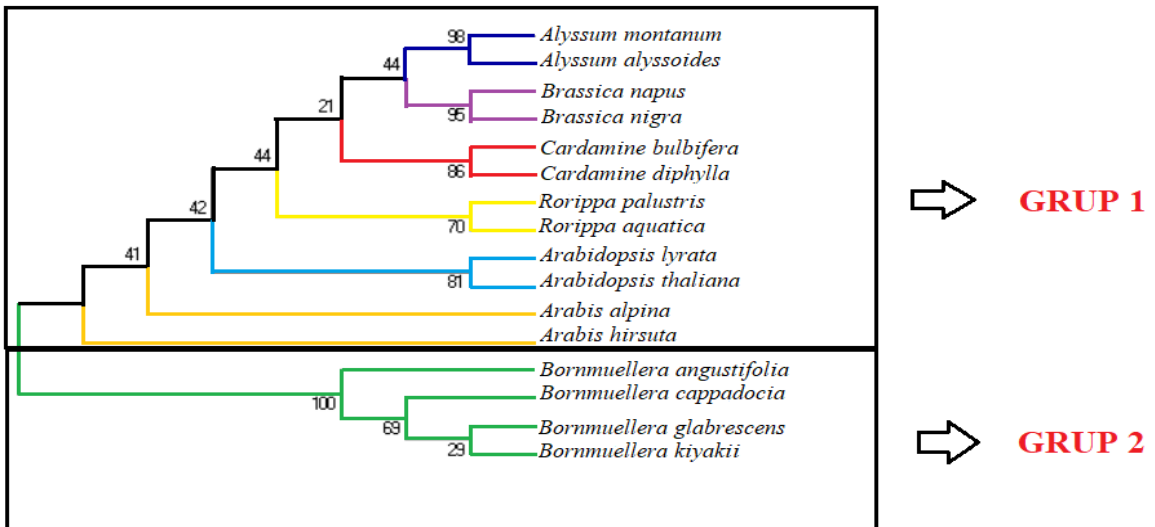
Şekil 4. 5. *trnL-F* bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı

Yapılan bu çalışmada NCBI'dan Brassicaceae familyasına ait; *Ricotia sinuata* (MK941974.1), *Ricotia carnosula* (MK941945.1), *Arabis alpina* (JF705252.1), *Arabis brachycarpa* (FJ188059.1), *Cardamine occidentalis* (EU819269.1), *Cardamine hirsuta* (FJ490777.1), *Cardamine flexuosa* (AB247985.1), *Fibigia clypeata* (KM033543.1), *Fibigia lunarioides* (KF022833.1), *Fibigia eriocarpa* (KF022831.1), *Hormathophylla halimifolia* (KM033559.1), *Hormathophylla purpurea* (KM033587.1), *Alyssum montanum* (KF022758.1), *Alyssum dasycarpum* (KF022735.1), *Alyssum thymops* (KF022789.1), *Bornmuellera tymphaea* (KF022823.1), *Bornmuellera baldaccii* (KF022818.1), *Bornmuellera dieckii* (KF022821.1), *Bornmuellera emarginata* (KF022845.1). türlerinin *trnL-F* dizileri alınarak *Bornmuellera* türleri ile filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmıştır.



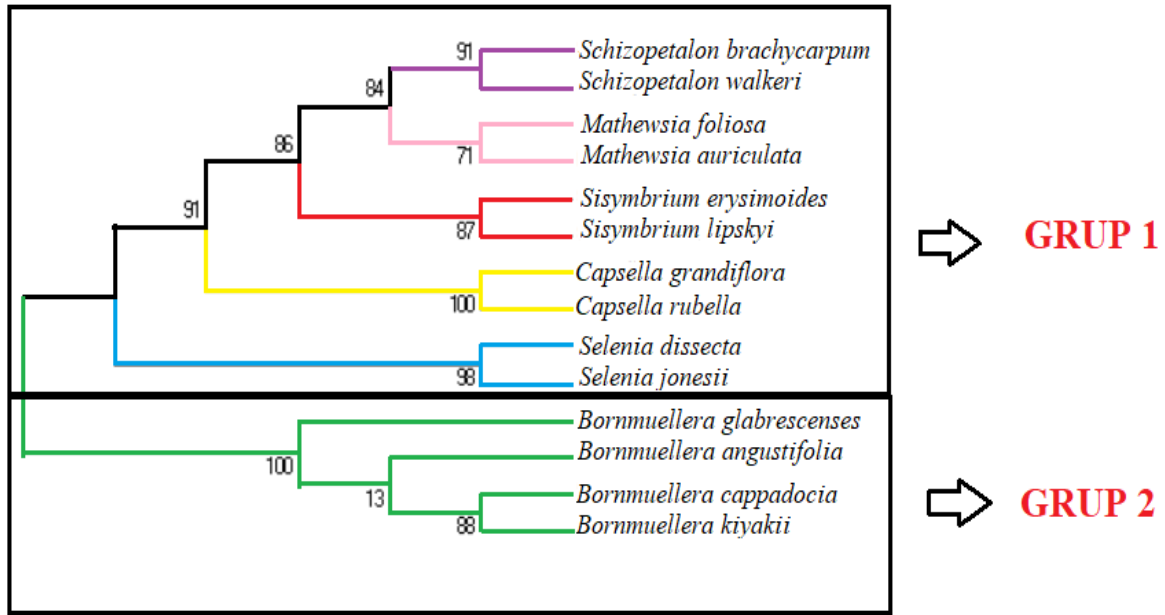
Şekil 4. 6. *trnL* intron bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı

Yapılan bu çalışmada NCBI'dan Brassicaceae familyasına ait; *Chrysochamela noeana* (OK018345.1), *Chrysochamela velutina* (OK018342.1), *Arabis pumila* (KF547822.1), *Arabis stellulata* (KF547812.1), *Lepidium campestre* (AF055265.1), *Lepidium virginicum* (AY015902.1), *Boechera stricta* (MW052217.1), *Boechera retrofracta* (MW052184.1), *Bunias erucago* (KX720729.1), *Bunias orientalis* (KX720745.1), *Smelowskia sisymbrioides* (AY230553.1), *Smelowskia annua* (AY230552.1), *Descurainia californica* (AY230544.1), *Descurainia pinnata* (AY230543.1), *Cardamine yezoensis* (HM237352.1), *Cardamine glechomifolia* (HM449940.1) türlerinin *trnL* intron dizileri alınarak *Bornmuellera* türleri ile filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 4. 7. *rbcL* bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı

Yapılan bu çalışmada NCBI'dan Brassicaceae familyasına ait; *Cardamine bulbifera* (MK924534.1), *Cardamine diphylla* (MK525361.1), *Alyssum montanum* (MF572150.1), *Alyssum alyssoides* (MG249145.1), *Arabidopsis lyrata* (MK525213.1), *Arabidopsis thaliana* (MK525214.1), *Brassica napus* (MK525322.1), *Brassica nigra* (MT747636.1), *Rorippa palustris* (MK526517.1), *Rorippa aquatica* (MK526236.1), *Arabis alpina* (MN258863.1), *Arabis hirsuta* (MK525215.1) türlerinin *rbcL* dizileri alınarak *Bornmuellera* türleri ile filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 4. 8. *trnQ-rps16* bölgesinin Maximum Likelihood analizi sonucu oluşan ağacı

Yapılan bu çalışmada NCBI'dan Brassicaceae familyasına ait; *Sisymbrium erysimoides* (MW331364.1), *Sisymbrium lipskyi* (MW331350.1), *Selenia jonesii* (FM986433.1), *Selenia dissecta* (FM986431.1), *Capsella grandiflora* (FR822325.1), *Capsella rubella* (FR822323.1), *Schizopetalon walkeri* (KC174553.1), *Schizopetalon brachycarpum* (KC174557.1), *Mathewsia foliosa* (KC174538.1), *Mathewsia auriculata* (KC174536.1), türlerinin *trnQ-rps16* dizileri alınarak *Bornmuellera* türleri ile filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında ülkemize ait endemik 4 adet *Bornmuellera* türünün *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* gen bölgelerinin filogenetik analizi gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda;

***trnL-F* bölgesine ait maksimum likelihood ağacında;** oluşturulan filogenetik ağaç 2 büyük gruptan oluşmuştur. Grup 2; *Bornmuellera* türleri bir grupta oluşmuştur. *Bornmuellera* grubu; *Bornmuellera baldaccii*, *Bornmuellera dieckii*, *Bornmuellera emarginata*, *Bornmuellera tymphaea*, *Bornmuellera cappadocia*, *Bornmuellera glabrescens*, *Bornmuellera kiyakii*, *Bornmuellera angustifolia* türlerinden oluşmaktadır. *Bornmuellera baldaccii* türü, *Bornmuellera dieckii* ve *Bornmuellera emarginata* türleri %71 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. %96 bootstrap değeriyle *Bornmuellera tymphaea* türü bu türlere yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera glabrescens* türü *Bornmuellera angustifolia* türü ile %58 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera cappadocia* türü *Bornmuellera angustifolia* ve *Bornmuellera glabrescens* türlerine %53 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera kiyakii* türü ise diğer Anadolu *Bornmuellera* türlerine %89 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. Anadolu *Bornmuellera* türleri diğer *Bornmuellera* türlerine %97 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir.

Grup 1 ; *Ricotia sinuata*, *Ricotia carnosula*, *Arabis alpina*, *Arabis brachycarpa*, *Cardamine occidentalis* , *Cardamine hirsuta*, *Cardamine flexuosa*, *Fibigia clypeata*, *Fibigia lunarioides*, *Fibigia eriocarpa*, *Hormathophylla halimifolia*, *Hormathophylla purpurea*, *Alyssum montanum*, *Alyssum dasycarpum* türlerinden oluşmuştur. *Arabis alpina* ve *Arabis brachycarpa* türleri % 95 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. *Cardamine hirsuta* ve *Cardamine flexuosa* birbirlerine yakınlık gösterirken, *Cardamine occidentalis* türüne % 100 bootstrap değeriyle yakınlık göstermişlerdir. *Hormathophylla halimifolia* ve *Hormathophylla purpurea* türleri %97 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Fibigia lunarioides* ve *Fibigia eriocarpa* türleri %95 bootstrap değeriyle yakınlık gösterirken bu türlere %88 bootstrap değeriyle *Fibigia clypeata* yakınlık göstermişlerdir. *Alyssum dasycarpum* ve *Alyssum thymops* türleri %71 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık gösterirken bu türlere *Alyssum montanum* %91 bootstrap değeri ile yakınlık göstermişlerdir.



**trnL intron bölgesine ait maksimum likelihood ağacında;** oluşturulan filogenetik ağaç 2 büyük gruptan oluşmuştur.

Grup 2: *Bornmuellera* türlerinden oluşmuştur. *Bornmuellera angustifolia* ile *Bornmuellera glabrescens* türleri %89 bootstrap değeriyle yakınlık gösterirken, *Bornmuellera cappadocia* ile *Bornmuellera kiyakii* türü %81 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera* türleri kendi aralarında %100 monofiletiktir.

Grup 1; *Chrysochamela*, *Arabis*, *Boechea*, *Bunias*, *Smelowskia*, *Descurainia*, *Cardamine* türlerinden oluşmaktadır. *Smelowskia sisymbrioides* ve *Smelowskia annua* türleri %98 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Descurainia californica* ve *Descurainia pinnata* türleri %72 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. *Smelowskia* ve *Descurainia* türleri %94 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. *Cardamine* türleri kendi aralarında %84 bootstrap değeriyle *Cardamine yezoensis* ve *Cardamine glechomifolia* türleri yakınlık göstermiştir. *Chrysochamela noeana* ve *Chrysochamela velutina* %87 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Cardamine* türleri ve *Chrysochamela* türleri %84 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Boechea stricta* ve *Boechea retrofracta* türleri %96 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. *Bunias orientalis* ve *Bunias erucago* %60 bootstrap değeriyle yakınlık göstermektedir. *Bunias* türleri ile *Arabis* türleri %64 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Arabis pumila* ve *Arabis stellulata* %76 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Lepidium campastre* ile *Lepidium virginicum* türleri %69 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir.

**rbcL bölgesine ait maksimum likelihood ağacında;** oluşturulan filogenetik ağaç 2 büyük gruptan oluşmuştur. Grup 2; *Bornmuellera kiyakii* ve *Bornmuellera glabrescens* birbirlerine yakınlık gösterirken bu türlere *Bornmuellera cappadocia* türü bu türlere %69'luk bootstrap değeriyle yakınlık göstermektedir. *Bornmuellera* türleri kendi aralarında %100 monofiletiktir.

Grup :1 *Alyssum montanum* ve *Alyssum alyssoides* türleri %98'lik bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Brassica napus* ve *Brassica nigra* türleri %95'lik bootstrap değeriyle yakınlık gösterirken, *Alyssum* türüne %44'lük bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Cardamine diphylla* ve *Cardamine bulbifera* türleri %86'lık bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Rorippa aquatica* ve *Rorippa palustris* türleri birbirlerine %70'lik bootstrap

değeriyle yakınlık göstermiştir. *Arabidopsis thaliana* ve *Arabidopsis lyrata* türleri %81'lik bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir.

***trnQ-rps16* bölgesine ait maksimum likelihood ağacında;** oluşturulan filogenetik ağaç 2 büyük gruptan oluşmuştur.

Grup 2; *Bornmuellera* türleri bu grupta toplanmıştır. *Bornmuellera kiyakii* ve *Bornmuellera cappadocia* türleri %88 oranında bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. Bu türlerle *Bornmuellera angustifolia* türü yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera* türleri kendi aralarında %100 monofiletiktir.

Grup 1; *Schizopetalon walkeri* ve *Schizopetalon brachycarpum* türleri %91 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık göstermiştir. *Mathewsia auriculata* ve *Mathewsia foliosa* türleri %71 bootstrap değeriyle birbirlerine yakınlık gösterirken, *Schizopetalon* ve *Mathewsia* türleri %84 bootstrap değeriyle birbirleri arasında yakınlık göstermiştir. *Sisymbrium* türleri *Mathewsia* ve *Schizopetalon* türlerine %86 bootstrap değeriyle yakınlık gösterirken kendi aralarında. *Sisymbrium lipskyi* ve *Sisymbrium erysimoides* türleri %87 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Capsella grandifolia* ile *Capsella rubella* türleri %100 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Capsella* türleri, *Mathewsia*, *Schizopetalon* ve *Sisymbrium* türlerine %91 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir. *Selenia jonesii* ve *Selenia dissecta* türleri %98 bootstrap değeriyle yakınlık göstermiştir.

Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde Özüdoğru ve Mummenhoff, (2020) tarafından yapılan çalışmada *Bornmuellera* cinsinin monofili, 100 bootstrap değeri (BS %) ile ITS ve *trnL-F* veri setlerinin ML analizleri tarafından güçlü bir şekilde desteklenmiştir. ML analizleri sonucunda Balkan *Bornmuellera* türleri ITS veri setinde (BS =97) monofiletik iken, bu ilişki *trnL-F* verileri tarafından desteklenmemiştir. Bizim yaptığımız çalışmada *trnL-F* verileri (BS =97) monofiletik veriler desteklenmiştir ve *trnL* intron, *rbcl* ve *trnQ-rps16* ağaçlarında ise (BS =100) monofiletik veriler desteklenmiştir. Özüdoğru ve Mummenhoff, (2020) tarafından yapılan çalışmada tüm bu ağaçlar *Bornmuellera*'da üç monofiletik klad olduğunu doğrulamıştır. Klad 1, iki Anadolu türünden (*B. angustifolia* ve *B. glabrescens*) oluşur ve 1.00 pp ile desteklenir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da ML analizleri sonucunda *trnL-F* ve *trnL* intron ağaçlarında *B.*

*angustifolia* ve *B. glabrescens* türleri kardeş çıkmıştır ve bu çalışma ile birbirlerini desteklemektedir. Klad 2, *B. cappadocica* ve *B. kiyakii* kardeş çıkmıştır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da ML ağacı ile oluşturulmuş *trnL-F* ve *trnL* intron verileri incelendiğinde *B. cappadocica* ve *B. kiyakii* türleri kardeş çıkmıştır. Üçüncü şube Balkan türlerini içermektedir ve bizim yapmış olduğumuz çalışmada da *trnL-F* ağacında balkan türleri birbirleriyle kardeş çıkmıştır. Bu çalışmada oluşturulan ITS ve *trnL-F* ağaçları, yapmış olduğumuz *trnL-F*, *trnL* intron ağaçlarıyla uyum sağlamaktadır. Ancak yapmış olduğumuz çalışmada ML analizleri ile oluşturulan *rbcL* ağacı incelendiğinde *B. glabrescens* ve *B. kiyakii* türleri kardeş olarak çıkmıştır. Bu çalışmada ise ITS ve *trnL-F* ağaçları incelendiğinde *B. glabrescens* ve *B. angustifolia* türleri kardeş çıkmıştır. Yapılan bu çalışmada ML analizleri ile oluşturulan *trnQ-rps16* ağacı incelendiğinde *B. cappadocica* ve *B. kiyakii* kardeş çıkmıştır. Özüdoğru ve Mummenhoff, (2020) tarafından yapılan çalışmada oluşturulan ITS ve *trnL-F* ağaçları ile uyum sağlamaktadır. Özüdoğru ve Mummenhoff, (2020) tarafından yapılan çalışmada *B. emarginata*'nın konumu dışında ağaçlar tamamen uyumludur: ITS ağacına, *B. tymphaea*, *B. baldaccii* ve *B. dieckii*'den oluşan dalın kardeşi olarak iki katılım yerleştirilir. cpDNA ağacı, incelenen bir *B. emarginata* katılımı, yalnızca *B. baldaccii* ve *B. dieckii*'nin kardeşidir, ancak zayıf desteğe sahiptir. Bu tez çalışmasında *trnL-F* bölgesi için, *B. angustifolia* ve *B. glabrescens* yakınlık göstermiş ve bir grup içinde bulunmaktadır. Balkan türleri olan *Bornmuellera* türleri Anadolu türleri ile aynı grup içinde bulunurken kendi içinde de alt gruplara ayrılmışlardır. *Bornmuellera* Anadolu türleri ile *Bornmuellera* Balkan türleri oluşturulan tüm ağaçlarda bir grup içinde çıkmıştır. Bu bulgular yapmış olduğumuz *trnL-F* ağacını desteklemektedir.

Rešetnik vd. (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Brassicaceae familyasına ait Alyseae'deki ilişkilerini incelemiştir. Çalışmada ITS gen bölgesine ait ML filogenetik ağacı oluşturulmuştur. *Bornmuellera* clade oluşmuştur ve bu clade de *Fibigia* ve *Hormathophylla* türleri *Bornmuellera* türleri ile aynı clade içinde çıkmıştır. Bu çalışmada oluşturulan *trnL-F* ağacı incelendiğinde bu türler *Bornmuellera* türleri ile yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera cappadocica* türü *B. tymphaea*, *B. Baldaccii* ve *B. Emarginata* türleri ile yakınlık göstermektedir. Bu yakınlık bu çalışmada yapılan *trnL-F* ağacında da bulunmaktadır ve diğer yapılan *Bornmuellera* çalışmalarını desteklemektedir

Aytaç ve Aksoy (2000) yaptıkları çalışmada *Bornmuellera*, *Alyssum* türüne benzer, meyve ve çiçekli materyalin yokluğunda onları ayırmanın zor olduğunu bildirmişlerdir.

*Alyssum*'da yıldız şeklinde, lepidot, sublepidot kılları veya bazen basit kıllar bulunur, ancak *Bornmuellera*'da bifid veya birkaç 3-4-fid kıl vardır, asla yıldız veya lepidot değildir. Buna ek olarak, *Bornmuellera*'da dış çanak yapraklar kesiktir ve meyve açıkça şişirilmiştir. *B. kiyakii*, Türkiye'ye endemik olan *B. cappadocica* ve *B. angustifolia* ile akrabadır ve yapılan filogenetik analizler sonucu bu yakınlık desteklenmektedir. Bu çalışmada yapılan filogenetik analizler ile bizim yapmış olduğumuz filogenetik analizler birbirlerini desteklemektedir ve Anadolu *Bornmuellera* türleri birbirleri ile yakınlık göstermektedir. Ancak bu iki türden tüysüz, bifid veya 4-fid tüyleri (bastırılmış kamışı olmayan), filiform yaprakları (doğrusal olmayan) ile ayrılmıştır. Meyve karakterleri bakımından *B. glabrescens*'e benzer, ancak yaprakları ipliksi ve 0,5 mm'den daha az (doğrusal değil ve 1,5–2 mm genişliğinde), sapları 8–15 cm uzunluğunda (25–40 cm değil) ve tohumlar ovaldir (dikdörtgen değil). *B. cappadocica* ve *B. angustifolia*'ya ait, çatallı olanların yanı sıra saplarında 3-4 fid tüy bulunan örnekleri incelenmiştir.

Çıtak vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Bornmuellera kiyakii* ve *Bornmuellera glabrescens* türlerinin morfolojik, anatomik ve polinolojik analizlerini araştırmışlardır. Bu amaçla Spesifik olarak, *B. glabrescens*'in morfolojik tanımı bu çalışma ile genişletilmiştir. *Bornmuellera* cinsinin anatomik yapısı ile ilgili herhangi bir literatür bulunmamaktadır ve çalışma Anadolu için çok belirgin endemik bitkiler olan *Bornmuellera kiyakii* ve *B. glabrescens*'in anatomisi için ilk rapordur. Kök kesitlerinde, *B. kiyakii* ve *B. glabrescens*, peridermis, korteks parankiması, ksilem, floem ve öz bölgesi açısından Brassicaceae familyasının kök anatomisinde bildirildiği gibi benzer bir ikincil yapıya sahip olduğu rapor edilmiştir. Çoğu türün tek bir kambiyumu vardır; *B. kiyakii* ve *B. glabrescens*'de olduğu gibi, büyüme halkaları, Brassicaceae'nin ağaç anatomisinde 16-71 µm arasında değişen dar damarlarla göze çarpmamaktadır. İncelenen taksonlar, korteks parankiminde kloroplastlar, iyi gelişmiş floem ve merkezde ksilem ve öz hücreleri içeren tek katmanlı bir epidermis ile karakterize edilen benzer kök anatomik özelliklerini paylaşmıştır. *B. kiyakii*'nin yaprakları üçgen şeklindeydi ve orta damar demeti diğerlerinden daha büyük olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, *B. glabrescens*, doğrusal şekilli yapraklara sahip ve *B. kiyakii*'de olduğu gibi orta damar demeti daha büyük olduğu bildirilmiştir. Mezofil, *B. glabrescens*'de *B. kiyakii*'den yaklaşık 2 kat daha fazladır. Diğer anatomik ölçümler, incelenen taksonlarda benzerdir. Bu çalışmada, *B. kiyakii* ve *B. glabrescens*'in meyve mikromorfolojisi ilk kez sunulmuştur. *B. kiyakii*'de meyveler küre şeklinde, kapakçıklar asimmetrik, şeffaf ve büyük olan sarı, küçüğü ise morumsu pembe renkteydi. Buna rağmen *B. glabrescens*'de meyveler

oval, kapakçıklar simetrik, deriye benzer ve meyvedeki kapakçık açık yeşilimsi-sarı renktedir. Çalışılan taksonların her ikisi de benzer meyve süslemesine (rugose) sahiptir. Yapılan bu morfolojik analizler sonucu yapmış olduğumuz moleküler çalışmada oluşturulan ML analizlerine göre oluşturulan *rbcL* ağacında bu türlerin (*B. glabrescens* ve *B. kiyakii*) yakınlıkları desteklenmektedir.

Marin vd. (1997) yaptıkları çalışmada *Bornmuellera dieckii*'nin morfolojik ve fitokimyasal özellikleri incelenmiştir. Yaprakların genişlik ve uzunluklarının yanı sıra silika uzunluğunun varyasyonu, Degen'in orijinal teşhisinde verilenden çok daha geniş bir aralığa sahiptir. Yaprak uzunluğu 1-4,5 cm (Degen'e göre 2-3 cm), genişlik 1,9-8,4 mm (Degen'de 4-7 mm), silika uzunluğu 2,9-5,5 mm (Degen'de 4 mm). Degen'in teşhisinin aksine, yaprakların üstü tüysüz değil, trikomlara her iki yüzeyde sahiptir. Eksenel yüzeydeki ortalama trikom sayısı yaklaşık 162 idi. eksenel yüzeyde mm' başına ve yaklaşık 7 mm'dir. *Bornmuellera dieckii*'de iki tür medifixed, tüberkülat trikom bulundu. Açık yapraklar kalın cidarlı ve sapsız, gövde üzerinde ise ince ve ince bir sap üzerinde kabarıktır. *Bornmuellera* cinsi morfolojik olarak *Lobularia* Desv.'e çok benzer, her iki cins de medifixed trikomlara sahiptir. Bununla birlikte, *Bornmuellera*'da yumurtalık ve silika tamamen tüsüzdür ve filamentlerin tabanında kısa bir diş vardır. *Bornmuellera*, trikomlarının morfolojisi ile diğer tüm ilgili cinslerden (*Alyssum* L., *Alyssoides* Mill., *Berteroa* DC., *Ptilotrichum* C.A. Mey.) açıkça farklıdır. *Bornmuellera* trikomları medifixed iken, diğer cinslerde dendritik veya yıldız şeklinde olduğu tespit edilmiştir. *Bornmuellera dieckii* ve diğer iki *Bornmuellera* türü basit, medifixed trikomlara sahiptir. Aynı tür medifixed trikomlara sahip iki küçük cins olan *Bornmuellera* ve *Lobularia*, ayrı evrim çizgilerini temsil edebilir. Trikomların oldukça yoğun olduğu diğer ilgili cinslerin aksine, *B. dieckii*'nin yaprakları, fitofag böceklere karşı güçlü bir savunma sağladığı görülemeyen dağınık trikomlara sahiptir. *Bornmuellera* türünün savunma sistemini araştırmışlardır. Bir bitkinin gaz ve sıcaklık rejimleri için önemli bir rol oynayabilecek olan indumentum, *Bornmuellera dieckii*'de az gelişmiş olduğundan, koruyucu rolleriyle de bilinen yaprak mumlarının alkanlarını analiz etmişlerdir. *B. dieckii*'de, her ikisi de çiçekli bitkilerde yaygın olan C29H60 (n-nonacosane) ve CLH64 (n-hentriacontane) olmak üzere alkanlarını analiz etmişlerdir. İlgili cins *Alyssum* (*A. markgrafii*) içindeki alkan bileşiminin benzer olduğu bulunmuştur: yine, C29 ve C11 ana bileşenler olarak tespit edilmiştir. C29'daki içerik, kuru ağırlığın gramı başına 0.73 mg (yaklaşık olarak *B. dieckii*'deki ile aynı), C11 içeriği ise 0.43 mg/g olarak tespit edilmiştir (*B. dieckii*'dekinden önemli ölçüde daha az). *Bornmuellera dieckii*'nin tohum lipidlerinin yağ

asidi bileşimine ilişkin analizler, Erusik asidin yeterli miktarda yutulması halinde memeliler için zararlı olduğu bilinmektedir. Erusik asidin diğer hayvanlar, özellikle böcekler için olası toksisitesine ilişkin verileri elden çıkarılamamıştır. Yine de bu asidin *B. dieckii* tohumlarında bulunması ek bir savunma mekanizması olarak yorumlanabilmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde 98 cins, 605 tür ve toplamda 676 takson içeren Brassicaceae familyası ülkemizde bulunan en büyük bitki familyalarından biridir (Appel ve Al- Shehbaz, 2003; Güner vd., 2012). Farmakolojik ve ekonomik açıdan önemli bir yere sahip olan Brassicaceae familyası birden fazla alanda kullanılmaktadır. İçlerinde çeşitli biyoaktif bileşikler bulunduran Brassicaceae familyası farmakoloji alanında birçok hastalıkla mücadelede ilaç sanayisinde kullanılmaktadır. Ekonomik açıdan incelendiğinde yem sanayisi, yemlik yağlar, baharat sektörü, boya sanayisi vb. gibi çeşitli alanlarda ekonomik çeşitlilik sunmaktadır.

Ülkemizin fitocoğrafik konumu sebebiyle yüksek endemizm oranına sahip olması günümüz bitkisel araştırma ekipleri için büyük avantajdır. Brassicaceae familyasına ait *Bornmuellera* türleri incelendiğinde Anadoluda endemizm gösteren 4 türü bulunmaktadır.

Bu çalışma Türkiye’de yayılış gösteren *Bornmuellera* türlerinin cpDNA *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* bölgelerine ait sekansları tespit edilerek türlerin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* bölgelerinin verilerine dayalı sonuçlar ile türler arasındaki genetik uzaklık, nükleotid kompozisyonu ve filogenetik ilişki saptanmıştır. Maksimum likelihood ağaçları incelendiğinde, NCBI’den temin edilen diğer Brassicaceae familyasına ait türlerden *Bornmuellera* türleri ayırım göstererek ayrı bir grup oluşturmuştur. Filogenetik ağaçlar incelendiğinde *trnL-F* ağacında *Bornmuellera glabrescences* ile *Bornmuellera angustifolia* yakınlık gösterirken, *trnL* intron ağacında *Bornmuellera angustifolia* türü ile *Bornmuellera cappadocia* türü yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera glabrescences* türü ise bu türlere yakınlık göstermiştir. *Bornmuellera* türleri ile oluşturulan *rbcL* ML ağacında *Bornmuellera glabrescences* türü ile *Bornmuellera kiyakii* türü yakınlık göstermiştir ve bu türlere *Bornmuellera cappadocia* türü yakınlık göstermiştir. *trnL-F* ağacı ile *rbcL* ağacının *Bornmuellera* türleri açısından farkı incelendiğinde, *Bornmuellera glabrescences* türü ile *Bornmuellera angustifolia* yakınlık göstermiştir. *trnQ-rps16* ağacı incelendiğinde *Bornmuellera kiyakii* türü *rbcL* ağacından farklı olarak *Bornmuellera cappadocia* türü ile yakınlık göstermiş ve bu türlere *Bornmuellera angustifolia* türü yakınlık göstermiştir. Ülkemizde endemik halinde bulunan *Bornmuellera*’nın 4 türüne ait *trnL-F*, *trnL* intron, *rbcL* ve *trnQ-rps16* sekans verilerinin Dünya Gen Bankası (NCBI)’na yüklenerek barkod

genlerin işlenmesi ve adımıza ait kayıt oluşturulması sağlanacaktır. Bu sayede gelecek yıllarda yapılacak olan filogenetik, morfolojik, anatomik ve fitokimyasal analizlere kaynak olarak kullanılabilir ve veriler sağlayabilecektir.





## KAYNAKLAR

- Al-Shehbaz, I. A. (1984). The tribes of Cruciferae (Brassicaceae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 65(3), 343-373.
- Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2), 89-120. doi: 10.1007/s00606-006-0415-z
- Appel, O, Al- Shehbaz I.A. (2003)a, Cruciferae, in Kubitzki, K (ed)The Families and Genera of Vascular Plants, Vol V. doi: 10.1007/978-3-662-07255-4\_17
- Appel, O., & Al-Shehbaz, I. A. (2003)b. Cruciferae. In *Flowering Plants· Dicotyledons* (pp. 75-174). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Avcı, M. (1993). Türkiye'nin flora bölgeleri ve "Anadolu Diagonali" ne coğrafi bir yaklaşım. *Türk Coğrafya Dergisi*, (28), 225-248.
- Ayaz, F. A., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., Alpay-Karaoğlu, S., Grúz, J., Valentová, K., Ulrichová, J., & Strnad, M. (2008). Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry*, 107(1), 19-25. doi:10.1016/j.foodchem.2007.07.003
- Aytac, Z., & Aksoy, A. (2000). A new species of *Bornmuellera* Hausskn.(Brassicaceae) from south Anatolia, Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 134(3), 485-490. doi: 10.1006/bojl.2000.0344
- Baker, W. J., Hedderson, T. A., & Dransfield, J. (2000). Molecular phylogenetics of subfamily Calamoideae (Palmae) based on nrDNA ITS and cpDNA *rps16* intron sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(2), 195-217. doi:10.1006/mpev.1999.0696

- 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. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026397
- Ball, P.W. (1993) *Peltaria* Jacq. In: Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A. (Eds.) *Flora Europaea* 1, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 358.
- Beilstein, M. A., Al-Shehbaz, I. A., & Kellogg, E. A. (2006). Brassicaceae phylogeny and trichome evolution. *American Journal of Botany*, 93(4), 607-619. doi:10.3732/ajb.93.4.607
- Beilstein, M. A., Al-Shehbaz, I. A., Mathews, S., & Kellogg, E. A. (2008). Brassicaceae phylogeny inferred from phytochrome A and *ndhF* sequence data: tribes and trichomes revisited. *American Journal of Botany*, 95(10), 1307-1327. doi:10.3732/ajb.0800065
- Blaxter, M. L. (2004). The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444), 669-679. doi:10.1098/rstb.2003.1447
- Bremer, K., Bremer, B., & Thulin, M. (2003). *Introduction to Phylogeny and Systematics of Flowering plants* (Vol. 33, No. 2). Department of Systematic Botany, University of Uppsala.
- Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. (2011). Phenolic compounds in Brassica vegetables. *Molecules*, 16(1), 251-280. doi:10.3390/molecules16010251
- CBOL Bitki Çalışma Grubu. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 12794-12797.

- Cecchi, L., Gabbriellini, R., Arnetoli, M., Gonnelli, C., Hasko, A., & Selvi, F. (2010). Evolutionary lineages of nickel hyperaccumulation and systematics in European Alysseae (Brassicaceae): evidence from nrDNA sequence data. *Annals of Botany*, *106*(5), 751-767. doi:10.1093/aob/mcq162
- Chardot, V., Massoura, S. T., Echevarria, G., Reeves, R. D., & Morel, J. L. (2005). Phytoextraction potential of the nickel hyperaccumulators *Leptoplax emarginata* and *Bornmuellera tymphaea*. *International Journal of Phytoremediation*, *7*(4), 323-335. doi:10.1080/16226510500327186
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, Ti., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, *5*(1), 8613.
- Cho, Y., Mower, J. P., Qiu, Y. L., & Palmer, J. D. (2004). Mitochondrial substitution rates are extraordinarily elevated and variable in a genus of flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(51), 17741-17744 doi:10.1073/pnas.0408302101
- Clegg, M. T. (1993). Chloroplast gene sequences and the study of plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(2), 363-367.
- Constantinidis, T., Bareka, E-P. & Kamari, G. (2002). Karyotaxonomy of Greek serpentine angiosperms. *Botanical Journal of the Linnean Society* *139*: 109–124. doi:10.1046/j.1095-8339.2002.00044.x
- Cullen, J. “*Bornmuellera*”, In: Davis, P.H. (Ed.) (1965). “Flora of Turkey and the East Aegean Islands”. *Edinburg University Press*, Edinburg.
- Çıtak, B. Y., Dural, H., & Gonen, B. (2019). A Survey of the morphology, anatomy, and palynology of endemic *Bornmuellera kiyakii* and *B. glabrescens* (Brassicaceae) from Turkey. *Gazi University Journal of Science*, *32*(3), 776-790. doi: 10.35378/gujs.455316

- 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. doi:10.2307/2656915
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791. doi:10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
- Fimognari, C., & Hrelia, P. (2007). Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 635(2-3), 90-104. doi:10.1016/j.mrrev.2006.10.004
- Fior, S., Karis, P. O., Casazza, G., Minuto, L., & Sala, F. (2006). Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae (Caryophyllales) inferred from chloroplast *matK* and nuclear rDNA ITS sequences. *American Journal of Botany*, 93(3), 399-411. doi.org/10.3732/ajb.93.3.399
- Franzke, A., Lysak, M. A., Al-Shehbaz, I. A., Koch, M. A., & Mummenhoff, K. (2011). Cabbage family affairs: the evolutionary history of Brassicaceae. *Trends in Plant Science*, 16(2), 108-116. doi:10.1016/j.tplants.2010.11.005
- Freeman, S., & Herron, J. C. (1999). Evrimsel Analiz, Çıplak, B., Başıbüyük, HH, Karaytuğ, S. ve Gündüz. İ.
- 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. doi:10.1111/j.1095-8339.1996.tb00480.x
- 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. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040157

- Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (2003). A prospective study of cruciferous vegetables and prostate cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(12), 1403-1409.
- 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), 1712-1730.6. doi:10.2307/2656749
- Greuter, W. , Burdet, H. M. , Long, G. (eds.). (1986.) *Med-Checklist*, vol.2, s.67.
- Griffin, H. G. & Griffin, A. M. (1993). DNA sequencing. *App. Biochem. Biotech.*, 38, 147-159.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. (edlr.) (2012). Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler, *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalı Derneği Yayını*, Flora Dizisi 1, İstanbul
- Hahn, W. J. (2002). A phylogenetic analysis of the Arecoïd line of palms based on plastid DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23(2), 189-204.
- Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic Acids Symp. Ser.* Vol. 41, pp. 95-98.
- Harper, J.L., (1977). Population biology of plants. *Academic Press*, London.
- Hartvig, P. (1986) *Leptoplax* O.E. Schulz. In: Strid, A. (Ed.) *Mountain Flora of Greece 1*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 275–276.
- Hartvig, P. (2002) *Bornmuellera* Hausskn. In: Strid, A. & Tan, K. (Eds.) *Flora Hellenica 2*. A. R. G. Gantner, Ruggell, pp. 233– 234.
- Hedge, I., (1965), in: Davis PH (ed). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands Volume I*, Edinburgh University Press, Edinburgh.

- Herr, I., & Büchler, M. W. (2010). Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: implications for prevention and therapy of cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 36(5), 377-383.
- Heywood, V. H. (1964). *Bornmuellera* Hausskn., in *Flora Europaea*, vol.1, T.G. Tutin et al. (eds.), s.306
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PloS One*, 6(5), e19254. doi:10.1371/journal.pone.0019254
- Kelchner, S. A. (2000). The evolution of non-coding chloroplast DNA and its application in plant systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 482-498. doi:10.2307/2666142
- Ketenoğlu, O., Obalı, O., Güney, K., Geven, F., Kurt, L., Tuğ, G.N., Bingöl, Ü., Körüklü, S.T. (2011). Ekonomik bitkiler. *Palme Yayıncılık*.
- 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. doi:10.1371/journal.pone.0000508
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369-8374. doi.org/10.1073/pnas.0503123102
- Lahaye, R., Van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., ... & Savolainen, V. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8), 2923-2928. doi:10.1073/pnas.0709936105
- Lee, J., & Hymowitz, T. (2001). A molecular phylogenetic study of the subtribe Glycininae (Leguminosae) derived from the chloroplast DNA *rps16* intron sequences. *American Journal of Botany*, 88(11), 2064-2073. doi:10.2307/3558432

- 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. doi:10.3732/ajb.90.1.107
- Lin, C. P., Wu, C. S., Huang, Y. Y., & Chaw, S. M. (2012). The complete chloroplast genome of *Ginkgo biloba* reveals the mechanism of inverted repeat contraction. *Genome Biology and Evolution*, 4(3), 374-381. doi:10.1093/gbe/evs102
- London, S. J., Yuan, J. M., Chung, F. L., Gao, Y. T., Coetzee, G. A., Ross, R. K., & Mimi, C. Y. (2000). Isothiocyanates, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, and lung-cancer risk: a prospective study of men in Shanghai, China. *The Lancet*, 356(9231), 724-729.
- Karataş M., Ed., (2012). Moleküler biyoloji. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Sugiura M., (1995) "The chloroplast genome," *Essays Biochem*, vol. 30, pp. 49–57.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230S-242S. doi:10.1093/ajcn/81.1.230S
- Mao, S., Han, Y., Wu, X., An, T., Tang, J., Shen, J., & Li, Z. (2012). Comparative genomic in situ hybridization (cGISH) analysis of the genomic relationships among *Sinapis arvensis*, *Brassica rapa* and *Brassica nigra*. *Hereditas*, 149(3), 86-90. doi:10.1111/j.1601-5223.2012.02248.x
- Marin, P. D., Petković, B., Vajs, V., & Tesević, V. (1997). Morphological and phytochemical analysis of *Bornmuellera dieckii* (Brassicaceae). *Bocconea*, 5(2), 563-569.

- Martin, H., Comeskey, D., Simpson, R. M., Laing, W. A., & McGhie, T. K. (2010). Quantification of folate in fruits and vegetables: A fluorescence-based homogeneous assay. *Analytical Biochemistry*, 402(2), 137-145. doi: 10.1016/j.ab.2010.03.032
- Martin, E., Akçiçek, E., Cetin, Ö., & Duran, A. (2011). Cytogenetical analysis of endemic *Matthiola montana* (Goldlack) from Turkey. *Biological Diversity and Conservation* – 4 / 1, 198-202
- Mithen, R., Faulkner, K., Magrath, R., Rose, P., Williamson, G., & Marquez, J. (2003). Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(4), 727-734. doi:10.1007/s00122-002-1123-x
- Mort, M. E., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Francisco-Ortega, J., & Santos-Guerra, A. (2001). Phylogenetic relationships and evolution of Crassulaceae inferred from *matK* sequence data. *American Journal of Botany*, 88(1), 76-91. doi:10.2307/2657129
- Mount, D. (2001). Bioinformatics: sequence and genome analysis. *COMSDrig Hiror LiOrcio)PaSS, New York*, 3-5.
- Nikolov, L. A., Shushkov, P., Nevado, B., Gan, X., Al-Shehbaz, I. A., Filatov, D., ... & Tsiantis, M. (2019). Resolving the backbone of the Brassicaceae phylogeny for investigating trait diversity. *New Phytologist*, 222(3), 1638-1651. doi:10.1111/nph.15732
- Oxelman, B., Lidén, M., & Berglund, D. (1997). Chloroplast *rps16* intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 206(1-4), 393-410. doi:10.1007/BF00987959
- Özüdoğru, B., & Mummenhoff, K. (2020). Phylogenetic and biogeographical history confirm the Anatolian origin of *Bornmuellera* (Brassicaceae) and clade divergence between Anatolia and the Balkans in the Plio-Pleistocene transition. *Turkish Journal of Botany*, 44(6), 593-603.



- Paçarizi, M., Krasniqi, E., Zogaj, M., & Ukaj, S. (2020). Hyper-Accumulation Of Nickel By *Bornmuellera dieckii* Degen As An Endemic Plant Species In Kosovo.
- Palmer, J. D. (1985). Comparative organization of chloroplast genomes. *Annual Review of Genetics*, 19(1), 325-354.
- Pan, J., Zhang, D., & Sang, T. (2007). Molecular phylogenetic evidence for the origin of a diploid hybrid of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, 94(3), 400-408. doi:10.3732/ajb.94.3.400
- Poppel, G. V., Verhoeven, D. T., Verhagen, H., & Goldbohm, R. A. (1999). Brassica vegetables and cancer prevention. *Advances in Nutrition and Cancer* 2, 159-168.
- Qiu, Y. L., Lee, J., Bernasconi-Quadroni, F., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Zanis, M., ... & Chase, M. W. (1999). The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature*, 402(6760), 404-407. doi:10.1038/46536
- Quandt, D., Müller, K., Stech, M., Frahm, J. P., Frey, W., Hilu, K. W., & Borsch, T. (2004). Molecular evolution of the chloroplast *trnL-F* region in land plants. *Monogr Syst Bot Mo Bot Gard*, 98, 13-37.
- Reeves, R. D., & Adigüzel, N. (2008). The nickel hyperaccumulating plants of the serpentines of Turkey and adjacent areas: a review with new data. *Turkish Journal of Biology*, 32(3), 143-153.
- Reeves, R. D., Adigüzel, N., & Baker, A. J. (2009). Nickel hyperaccumulation in *Bornmuellera kiyakii* Aytaç & Aksoy and associated plants of the Brassicaceae from Kızıldağ (Derebucak, Konya-Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 33(1), 33-40. doi:10.3906/bot-0801-2
- Reeves, R. D., Brooks, R. R., & Dudley, T. R. (1983). Uptake of nickel by species of *Alyssum*, *Bornmuellera*, and other genera of old world tribus Alysseae. *Taxon*, 32(2), 184-192. doi:10.2307/1221970

- Rešetnik, I., Satovic, Z., Schneeweiss, G. M., & Liber, Z. (2013). Phylogenetic relationships in Brassicaceae tribe Alysseae inferred from nuclear ribosomal and chloroplast DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3), 772-786. doi: 10.1016/j.ympev.2013.06.026
- Resetnik, I., Schneeweiss, G. M., & Liber, Z. (2014). Two new combinations in the genus *Bornmuellera* (Brassicaceae). *Phytotaxa*, 159(4), 298-300. doi:10.11646/phytotaxa.159.4.8
- Saitou, N., & Imanishi, T. (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree.
- Sancar, P. Y. (2017). Türkiye'de yetişen *Anthriscus* pers.(Apiaceae) türlerinin genetik yapısının ve filogenetik akrabalık ilişkilerinin kloroplast genomunun kodlanmayan" trn" bölgelerine göre araştırılması/The investigation on the genetic structures and phylogenetic relationships of the species of the genus *Anthriscus* pers.(Apiaceae) distribution in Turkey, by use of non-coding" trn" regions of chloroplast genome.
- Sarıçam, S., & Müştak, H. K. (2015). Filogenetik ağaçlandırma metotları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(2), 58-64.
- Satıl, F., Ünal, M., & Selvi, S. (2017). Türkiye'de yayılış gösteren *Chorispora* DC. Brassicaceae türleri üzerinde karşılaştırmalı anatomik çalışmalar. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 10(2), 193-197.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94(3), 275-288. doi:10.3732/ajb.94.3.275
- Sıralı, R., Uğur, A., Zambı, O., Dikmen, A., & Çağlar, S. (2013). Turpgiller (Brassicaceae) familyasına ait bazı türlerin arıcılık açısından önemi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 2(2), 107-115.

- Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1998). Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. In *Molecular Systematics of Plants II* (pp. 1-42). Springer, Boston, MA. doi:10.1007/978-14615-5419-6\_1
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, *17*(5), 1105-1109. doi:10.1007/BF00037152
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, *123*(3), 585-595. doi:10.1093/genetics/123.3.585
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, *10*(3), 512-526. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, *30*(12), 2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Tansı, V., Kumova, U., & Kızıl Aydemir, E. S. (1999). Bazı yem bitkilerinin arı mer'ası olarak kullanılma olanakları ve tohum verim kalitelerinin saptanması üzerine bir araştırma. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *14*(4), 81-90.
- Torlak, H., Vural, M., & Aytaç, Z. (2010). *Türkiye'nin Endemik Bitkileri*. Kültür ve Turizm Bakanlığı.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, *2*(12), 1231-1246. doi:10.3390/nu2121231
- Warwick, S. I., & Al-Shehbaz, I. A. (2006). Brassicaceae: chromosome number index and database on CD-Rom. *Plant Systematics and Evolution*, *259*(2), 237-248. doi:10.1007/s00606-006-0421-1

- Warwick, S. I., Francis, A., & Al-Shehbaz, I. A. (2006). Brassicaceae: species checklist and database on CD-Rom. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2), 249-258. doi:10.1007/s00606-006-0422-0
- Whitney, S. M., & Andrews, T. J. (2001). Plastome-encoded bacterial ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) supports photosynthesis and growth in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25), 14738-14743. doi:10.1073/pnas.261417298
- 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(5), 724-732. doi:10.1007/s001220051537
- 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. doi:10.1007/BF03030787

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

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *BORNMUELLERA* HAUSSKN. (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN KLOOROPLAST DNA (CPDNA) *TRNL*-INTRON, *TRNL*-F, *TRNQ-RPS16*, *RBCL* BÖLGELERİNE DAYALI FİLOGENETİK ANALİZİ”. başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Kemalcan OKAN

27 /07 / 2022

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : OKAN, Kemalcan  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi (Yıl)
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	10.06.2019

### BURSLAR ve ÖDÜLLER

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2021-...	SUN CEVİZ VE TARIMCILIK Üretim Pazarlama A.Ş. (TDT FİRMASI)	Ziraat Mühendisi

### AKADEMİK YAYINLAR

#### 1. MAKALELER

OKAN, K., AYDIN, S., APAYDIN, E., & SEVİNDİK, E. (2018). Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Juglans regia* L.(Juglandaceae) Leaves Grown in the West Anatolian Area. *ProEnvironment Promediu*, 11(33).

SEVİNDİK, E., & OKAN, K. (2020). Genetic Diversity and Phylogenetic Analyses of *Laurus nobilis* L.(Lauraceae) Populations Revealed Chloroplast (cpDNA) *trnL* Intron and *trnL-F* Region. *International Journal of Fruit Science*, 20(sup2), S82-S93.

SEVİNDİK, E., OKAN, K & EFE, F. (2020). Analysis of Genetic Diversity Between *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.(Rosaceae) Populations Growing in the Aegean Region of Turkey. *Bulletin UASVM Horticulture*, 77, 2.

## 2. PROJELER

Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren Defne (*Laurus nobilis L.*) Popülasyonlarının Kloroplast (cpDNA) *trnL* İtron ve *trnL-F* Sekanslarına Dayalı Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi. (2018/1) TUBİTAK 2209-A Tarafından Desteklenmiştir

Ege ve Marmara Bölgesinde Yayılış Gösteren *Juglans regia L.* (Ceviz) Popülasyonlarının Çekirdek (nrDNA) ITS Bölgelerine ve ISSR Markılarına Dayalı Moleküler Karakterizasyonun Belirlenmesi. (2017/2) TUBİTAK 2209-A Tarafından Desteklenmiştir

Türkiye’de Yayılış Gösteren Brassicaceae Familyasına Ait *Bornmuellera Hausknn* Türlerinin Kloroplast DNA (cpDNA) *trnL-F*, *trnL* İtron, *trnQ-rps16* Bölgelerine Dayalı Filogenetik Analizi. (2021) BAP Tarafından Desteklenmiştir

## 3. BİLDİRİLER

### A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Identification and Characterization of *Pectin Lyase* Protein in *Prunus persica* by Using Bioinformatics Tools, XIII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK, 12-15 Eylül 2017.

Determination Total Phenolic and Flavonoids Compounds *Juglans regia L.* (Juglandaceae) Leaves Grown in Western Anatolian Ecological Conditions, XIII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK, 12-15 Eylül 2017.

Biyoinformatik Araçlar Kullanılarak Bazı *Vitis L.* Türlerine ait *Stilbene synthase* Proteinlerinin İn Siliko Analizi, III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 2018, 26-29 Eylül 2018.

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

Antifungal Activity of Essential Oils of Flower and Leave Parts of *Laurus nobilis L.* Collected from Aydın, III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 2018, 26-29 Eylül 2018.

Bazı Bitki Türlerine Ait *Aspartokinase* Proteinlerinin Biyoinformatik Ve Filogenetik Analizi (Sözlü Sunum), III. Uluslararası Katılımlı Bitki Fizyolojisi Sempozyumu 2018, 26-29 Eylül 2018.

Bazı Rosaceae (Gülgüller) Türlerine Ait Fenilalanin Amonyum Liyaz (Pal) Proteinlerinin İn Siliko Analizi, 1. International Young Researchers Congress, 28-30 Kasım 2019.

## B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Aydın/Kuşadası Ekolojik Koşullarında Yayılış Gösteren Çınar(*Platanus Orientalis L.*) Meyvesinin Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi, 19.Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 1-3 Aralık 2017.

Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Defne (*Laurus nobilis*) Popülasyonlarının Kloroplast (cpDNA) *trnL-F* Dizilerine Dayalı Moleküler Karakterizasyonun Belirlenmesi, 9. Ulusal Tarım Öğrenci Kongresi, 20-21-22 Nisan 2019.

Genetic Diversity Analysis of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. Populations Grown in the Ege Region of Turkey, Uluslararası Katılımlı 8.Tarım Öğrenci Kongresi, 27-29 Nisan 2018.

Ege Bölgesinde Yetişen Bazı Yenidünya (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) Popülasyonlarının Moleküler Karakterizasyonu, Uluslararası Katılımlı 8.Tarım Öğrenci Kongresi, 27-29 Nisan 2018.