

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE'DE DOĞAL YAYILIŞ GÖSTEREN *ANKYROPETALUM*  
FENZL (CARYOPHYLLACEAE) TAKSONLARI ARASINDAKİ  
AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN ISSR (INTER-SIMPLE SEQUENCE  
REPEATS) YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

**Cengiz ATGÜDEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2016**



**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE'DE DOĞAL YAYILIŞ GÖSTEREN *ANKYROPETALUM*  
FENZL (CARYOPHYLLACEAE) TAKSONLARI ARASINDAKİ  
AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN ISSR (INTER-SIMPLE SEQUENCE  
REPEATS) YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

**Cengiz ATGÜDEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2016**

Doç. Dr. Ömer Faruk KAYA danışmanlığında Cengiz ATGÜDEN'in hazırladığı “Türkiye’de Yayılış Gösteren *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae) Taksonları Arasındaki Akrabalık İlişkilerinin ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) Yöntemi ile Belirlenmesi” konulu bu çalışma 27/10/2016 tarihinde aşağıdaki jüriler tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Doç. Dr. Ömer Faruk KAYA .....

Üye : Doç. Dr. Arzu CANSARAN .....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ .....

**Bu tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylıyorum.**

**Prof. Dr. Murat KISA**  
Enstitü Müdürü

**Bu çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
Proje no:15142

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	12
3.1. Materyal.....	12
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. Yaprak örneklerinin toplanması.....	12
3.2.2. DNA örneklerinin izolasyonu.....	13
3.2.3. DNA konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	13
3.2.4. ISSR PCR uygulaması.....	14
3.2.5. Sonuçların değerlendirilmesi.....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	18
4.1. DNA Analizleri.....	18
4.2. ISSR Analizleri.....	18
4.3. Benzerlik İndeksi ve Genetik İlişki Dendogramı.....	20
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	23
KAYNAKLAR.....	25
ÖZGEÇMİŞ.....	28

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

**TÜRKİYE’DE DOĞAL YAYILIŞ GÖSTEREN *ANKYROPETALUM* FENZL  
(CARYOPHYLLACEAE) TAKSONLARI ARASINDAKİ AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN  
ISSR (INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS) YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

Cengiz ATGÜDEN

Harran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ömer Faruk KAYA

Yıl: 2016, Sayfa: 28

*Ankyropetalum* Fenzl cinsi Dünya’da dört (4) tür ile temsil edilirken, üç (3) tanesi ülkemizde bulunmaktadır. Bu çalışmada, ISSR primerleri kullanılarak Türkiye’de bulunan *Ankyropetalum arsusianum*, *Ankyropetalum reuteri* ve *Ankyropetalum gypsophiloides* taksalarının genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri analiz edilmiştir. Türlerin, DNA parmak izi analizi ISSR tekniğinde 48 primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polimorfizm derecesi %83.68 olarak kaydedilmiştir. En fazla polimorfik primer 16 band üreten ve 11 polimorfik bantla sonuçlanan (GT)<sub>8</sub>YG motifli primerdir. Küme dendrogramında, benzerlik katsayıları 0.117 ile 0.351 aralığında olduğunu göstermiştir. *Ankyropetalum gypsophiloides*, bir küme ile temsil edilirken, *Ankyropetalum arsusianum*, ve *Ankyropetalum reuteri* ikinci küme ile temsil edilmektedir. Bu çalışma Türkiye’de yayılış gösteren *Ankyropetalum* türlerini genetik olarak karakterize etmekte ve ISSR analizlerinin, genetik çeşitlilik çalışılmasındaki önemini göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Ankyropetalum*, Caryophyllaceae, ISSR, Genetik Çeşitlilik, Türkiye

## ABSTRACT

MSc Thesis

**DETERMINATION OF PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AMONG THE TAXA OF THE GENUS *ANKYROPETALUM* FENZL (CARYOPHYLLACEAE) FROM TURKEY BASED ON ISSR (INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS) METHOD**

**Cengiz ATGÜDEN**

**Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Omer Faruk KAYA**

**Year: 2016, Page: 28**

The Genus *Ankyropetalum* Fenzl is represented by four species in the world, three of which are distributed in Turkey. In this study, genetic diversity and phylogenetic relationships of the three taxa, *Ankyropetalum arsusianum*, *Ankyropetalum reuteri* and *Ankyropetalum gypsophiloides* from Turkey, were analyzed using ISSR primers. DNA fingerprinting analyses of the species were performed using 48 primers in ISSR technique. The polymorphism rate was recorded as 83.68%. The most polymorphic primer was (GT)<sub>8</sub>YG motif primer, which produced 16 bands, resulted 11 polymorphic bands. The cluster dendrogram shows that the similarity coefficients ranged from 0.117 to 0.351. *A. gypsophiloides* varieties represented one cluster whereas *A. reuteri* and *A. arsusianum* represented the second cluster. This study genetically characterized *Ankyropetalum* species that are distributed in Turkey and showed the importance of ISSR analyses to study genetic diversity.

**KEY WORDS:** *Ankyropetalum*, Caryophyllaceae, ISSR, Genetic Diversity, Turkey

## TEŞEKKÜR

Çalışmam sırasında bilgi ve birikimiyle beni yönlendiren ve bu konuda bana destek olan danışman hocam Doç. Dr. Ömer Faruk Kaya'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca bitki örneklerimin toplanmasında lokasyonlar hakkında bizi fikir sahibi eden, önceki çalışmalarda imzaları bulunan tüm bilim insanlarına, arazi çalışmalarım sırasında bana eşlik eden değerli hocama ve değerli arkadaşım Ayfer KARATAŞ'a çok teşekkür ederim. Bunun yanında DNA izolasyonu aşmasında her türlü bilgi, birikim ve becerisiyle yanımızda olan Doç. Dr. Tijen DEMİRAL hocam ve ekibine, moleküler çalışmalarımızda ben ve değerli arkadaşım Ayfer hanımı misafir eden laboratuvarını açan Kültür Üniversitesi'ne ve moleküler çalışmaların yürütülmesinde bize destek olan Doç. Dr. Özge ÇELİK ve ekibine teşekkürlerimi sunarım. Tez yazımı sırasında çok büyük yardımlarını gördüğüm Öğr. Gör. Hatice TOSYAGÜLÜ ÇELİK hocama en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmam esnasında bana her konuda yardımcı olan eşim Tuğba ATGÜDEN, annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.





## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. <i>Ankyropetalum arsusianum</i> 'un genel görünüşü.....	5
Şekil 1.2. <i>Ankyropetalum reuteri</i> 'nin genel görünüşü.....	6
Şekil 1.3. <i>Ankyropetalum gypsophiloides</i> 'in genel görünüşü.....	7
Şekil 3.1. <i>Ankyropetalum</i> cinslerinin coğrafik konumları.....	12
Şekil 3.2.. Elektroforez cihazı.....	14
Şekil 3.3.. PCR cihazı.....	15
Şekil 4.1.. ISSR markör analizlerinin Jaccard katsayısı kullanılarak UPGMA küme analizinden elde edilen dendogramı.....	21
Şekil 4.2. %2 agaroz jelde UBC 881(a) ve UBC 826 (b) primerlerince oluşturulan <i>Ankyropetalum</i> türlerinin ISSR amplifikasyonunun temsili sonuçları.....	22

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. ISSR <i>Ankyropetalum</i> Fenzl taksonlarının toplandığı lokaliteler.....	13
Çizelge 3.2. Elde edilen DNA konsantrasyonları.....	14
Çizelge 3.3. ISSR-PCR’da kullanılan ve çoğalma gösteren primerler ile Tm dereceleri.....	15
Çizelge 3.4. ISSR-PCR’da kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları.....	16
Çizelge 3.5. ISSR tekniğinin uygulanmasında PCR sıcaklık ve döngü koşulları.....	17
Çizelge 4.1. ISSR-PCR’da kullanılan primerler, bağanma sayıları, çoğalan bantların sayıları ve polimorfizm oranları.....	19
Çizelge 4.2. <i>Ankyropetalum</i> cinsleri için oluşturulan Jaccard’ın genetik benzerlik matrisi.....	21



## SİMGELER DİZİNİ

<b>AFLP</b>	Amplified Fragment Length Polymorphism
<b>bç</b>	Baz çifti
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>dNTP</b>	Deoksiribonükleik asit trifosfat
<b>EN</b>	Nesli Tükenmekte Olan Tür
<b>ISSR</b>	İnter-Simple Sequence Repeat
<b>IUCN</b>	Doğa ve Doğal Kaynakların Korunması için Uluslararası Birlik
<b>mM</b>	Milimolar
<b>ng</b>	Nanogram
<b>NTSYS</b>	Sayısal Taksonomi ve Değişkenli Analiz Sistemi
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RAPD</b>	Randomly Amplified Polymorphic DNA
<b>RFLP</b>	Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>SAHN</b>	Sequential agglomerative hierarchical nonoverlapping
<b>SNP</b>	Single Nükleotid Polymorphism
<b>SRAP</b>	Sequence Related Amplified Polimorfizm
<b>SSR</b>	Simple Sequence Repeat
<b>T<sub>m</sub></b>	Bağlanma sıcaklığı
<b>U</b>	Ünite
<b>UPGMA</b>	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean-Aritmetik
<b>µL</b>	Mikrolitre
<b>µM</b>	Mikromolar

## 1.GİRİŞ

Bitki sistematigi çalışmlarında, bitkileri tanımlamada kullanılan diagnostik karakterler genel olarak morfolojiye bağlı olarak tespit edilmektedir. Klasik taksonomi olarak da tanımlanan bu sınıflandırma yöntemlerine ek olarak son yıllarda moleküler markörlerin kullanıldığı sınıflandırma yöntemleri de dikkat çekmeye başlamıştır.

DNA'nın yapısının ortaya çıkarılması ile başlayan ve 20. yüzyıla damgasını vuran "Gen Devrimi" pek çok disiplinde olduğu gibi bitki sistematiginde de çok önemli yararlar sağlamıştır (Khawar, 2001; Uranbey, 2002).

Bitkiler arasındaki genetik varyasyonların belirlenmesinde ve bunların sınıflandırılmasında öncelikle morfolojik, fizyolojik ve sitolojik özellikler kullanılmış, daha sonra ise biyokimyasal markörler geliştirilmiştir (Scarano ve ark., 2002). Ancak bu çalışmaların bitki sistematik kategorilerini tanımlamakta yetersiz oluşu, son yıllarda taksonomi çalışmalarında daha çok moleküler yöntemlere ağırlık verilmesi ile sonuçlanmıştır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Moleküler teknikler, diğer tekniklere göre daha fazla avantajlara sahip olup, çevre faktörlerinden etkilenmezler ve polimorfizm oranları yüksektir (Soller ve Beckmann, 1983; Bretting ve Widrlechner, 1995).

Morfolojik olarak ortaya çıkan çeşitlilik, genetik çeşitliliğin ancak küçük bir yüzdesini oluşturur. Genetik çeşitliliğin büyük bir kısmı da morfolojiye yansımamaktadır. Morfolojiden elde edilen bilgiler, genetik farklılıkları belirlemede kullanılsa da genotip-çevre etkileşimi, bir karakterin birden fazla lokus tarafından belirlenmesi ve bir genin birden fazla karakteri etkilemesi gibi nedenlerden dolayı her zaman yeterli olmamaktadır. Bu nedenle genotipleme konusunda DNA'ya bağlı olarak gelişmiş olan moleküler teknolojilerin çözüm olabileceği belirtilmiştir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Günümüzde bitki türlerinin tanımlanmasında ve genetik varyasyonun araştırılmasında moleküler teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Son 20 yıl içerisinde hızla gelişen moleküler teknoloji; çeşitlerin birbirleri arasındaki genetik farklılığın belirlenmesi, kromozom haritalamaları, gen kaynaklarının karakterize edilmesi ve evrimsel gelişim analizi çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu yöntemler, klasik yöntemlere göre büyük avantajlar sağlamaktadır. Morfolojik ve biyokimyasal tekniklerin uygulamadaki yetersizlikleri, moleküler tekniklerin uygulanmasıyla ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır.

Bitkilerde genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için kullanılan ilk DNA markörü RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) olmuştur. Fakat bu yöntemin maliyetinin çok yüksek ve yavaş olması PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı moleküler markörlerin gelişmesine neden olmuştur. (Tanskley ve ark., 1989).

PCR'ın keşfinden sonra AFLP, SSR, SRAP, SNP ve ISSR gibi yaygın olarak kullanılan çok sayıda moleküler markör teknikleri geliştirilmiştir. Genel olarak bu markör yöntemleri fiziksel haritalama, gen keşfi ve etiketleme, filogenetik çalışmalar, evrimsel genetik ve genetik çeşitlilik çalışmaları gibi birçok alanda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

DNA markörlerinin uygulanabilmesi için çalışma ortamı maliyetinin yüksek olması ve uzun zaman alması gibi olumsuz özelliklerinin yanında çok fazla sayıda olmaları, çevreden etkilenmemeleri, lokuslar arası etkilenme olmaması ve bitki gelişiminin herhangi bir döneminde gözlenebilir olması gibi olumlu özelliklerini taşımalarından dolayı günümüzde birçok alanda DNA markörleri tercih edilmektedir (Karadut ve Kafkas, 2013).

Moleküler markör metotları arasında Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) kullanım avantajları yüzünden yaygın olarak tercih edilmektedir. ISSR basit, hızlı ve etkili bir tekniktir. ISSR markörleri, bir tür için, öncül DNA sekansına ihtiyaç duymaksızın başlangıç genotipleme bilgisini sağladığından kullanışlı bir seçenektir. ISSR için kullanılan primerler özel olmayıp herhangi bir tekrarlı diziden sentezlenebilir ve primerler uzun olduğu için sıkı bağlanma sağlarlar. ISSR

teknığının tekrarlanabilirliği daha uzun bir primer dizisine sahip olması nedeniyle yüksektir (Reddy ve ark., 2002).

ISSR tekniği pek çok bitki türündeki filogenetik çalışmalarda; tür içi-türler arası, populasyon içi-populasyonlar arası genetik varyasyon çalışmalarında ve filogenetik sınıflandırma analizlerinde ve aynı zamanda genetik bağ haritalarının oluşturulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhao ve ark., 2014; Jena ve ark., 2015).

Bu tezin çalışma materyali olan *Ankyropetalum* Fenzl cinsi Caryophyllaceae familyasının bir üyesidir. Caryophyllaceae familyası Türkiye’de, *Ankyropetalum* dahil 32 cins ve 548 taksaya sahiptir (Davis, 1965-1985; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000).

*Ankyropetalum* cinsi, *Gypsophila* cinsinden derin üç parçalı petali, olgunlukta açılan kapsülü, küremsi tohumlarıyla (basık değil), *Saponaria* cinsinden ise kaliksin damarları arasının geniş zarımsı olması ile ayrılır (Rechinger, 1988).

*Ankyropetalum* cinsinin klasik taksonomi açıdan tanımlanması Huber-Morath (1967)’a göre şu şekildedir;

#### ***Ankyropetalum* Fenzl**

Çok yıllık otlar, dallanmamış veya girift dallanmış, tabanda odunlaşmış gövde. Yapraklar şeritsi, çok kere düşüçüdür. Çiçek durumu gevşek şekilde dikazyum. Kaliks (çanak yaprak) çan şeklinde-tüpsü, 5 damarlı, damarlararası şeffaf. Petaller (taç yaprak) uzun şeritsi tırnakları olan üç ana parçalı yapıdadır. Stamenler 10 tane olup, tüpün boyunu aşmıştır. Sital 2 tane, Kapsül yumurtamsıdan dikdörtgeniye değişen şekilli, tek gözlü, boyuna yarıklardan tabandan yırtılan, 1-3 tohumludur. Tohumlar böbreksi-küremsi olup, tanecikli kıvrımlar ile örtülüdür.

*Ankyropetalum*, dünya genelinde sadece dört taksondan oluşmaktadır, bunlardan *Ankyropetalum coelesyriacum* Boiss. hariç diğer üç tanesinin

(*Ankyropetalum arsusianum*, *Ankyropetalum reuteri* ve *Ankyropetalum gypsophiloides*) Türkiye’de doğal yayılışı bulunmaktadır. Bu taksonlar Türkiye’de genellikle step vejetasyonunda, kurak tepelerde ve kalkerli kayalarda bulunur (Huber-Morath, 1967) ve coğrafik olarak Güneydoğu Anadolu bölgesinde ve kısmen de Güneydoğu Anadolu bölgesi ile Akdeniz bölgelerinin kesişme noktalarında yayılış göstermektedir.

Çalışma konusu olan Türkiye’de yayılışı olan üç taksonun klasik taksonomi açısından tanımı Huber-Morath (1967)’a göre aşağıdaki gibidir;

*Ankyropetalum arsusianum* Kotschy ex Boiss.

Dallanmamış ve birkaç kez dallanmış, 50-70 cm yükselebilen, tüsüz ve az tüylü. Yapraklar şeritsi, 5-15 x 1-3 mm. Kaliks 3-4 mm, az tüylü, kaliks dişleri yumurtamsı, sivri değil. Petaller üç loblu, loblar yarık ile iki parçaya ayrılmış, tırnak şeritsi, az çok yumuşak tüylü.

Type: [Turkey C5 Hatay] In praeruptis saxosis et glareosis ad pagum Arsusa (Arsuz) in monte Amano, 1862, Kotschy 117 (holo. G! iso. L, JE)



Şekil 1.1. *Ankyropetalum arsusianum*'un genel görünüşü

***Ankyropetalum reuteri* Boiss. & Hausskn.**

Girift dallanmış, 40-80 cm yükselebilen, alt kısımları tüysüz olup, üst kısımlarında salgı tüyleri mevcut. Yapraklar 10-20 x 1 mm. Kaliks 4-5 mm, salgı tüylü, kaliks dişleri yumurtamsı, aşınmış. Petaller üç loblu, yan loblar yarık, orta lob tam, aşınmış, tırnak papilli.

Type: [Turkey C6 Maraş] In rupestribus montis Bakkerdagh [Ahir Da.] prope Marasch, 15 vii 1861, Haussknecht (holo G!). Endemik.





Şekil 1.2. *Ankyropetalum reuteri*'nin genel görünüşü

***Ankyropetalum gypsophiloides* Fenzl**

Girift dallanmış, 50-80 cm yükselebilen, alt kısımları tüysüz veya salgı tüylü, üst kısımlarında her zaman salgı tüyleri mevcut. Yapraklar 20-40 x 1-2 mm. Kaliks 4-5 mm, salgı tüylü, kaliks dişleri yumurtamsı, sivri değil. Petaller beş loblu (bazen üç loblu), orta lob tam, eşkenar üçgen şekilli, tırnak tüysüz.

Type: [Turkey C8 Mardin] Mardin, Kotschy 356 (holo. G! iso. E!).

İran-Turan elementi.



Şekil 1.3. *Ankyropetalum gypsophiloides*'in genel görünüşü

Türkiye’de bulunmayan *A. coelesyriacum*, doğal olarak Suriye, Lübnan, İsrail ve Ürdün boyunca dağılmıştır (Marhold, 2011). *Ankyropetalum* cinsinin gen merkezi, taksonun dağılım bölgeleri düşünüldüğünde, Güneydoğu Anadolu ile Akdeniz bölgelerinin kesişim alanı olduğu söylenebilir. *A. gypsophiloides*, İran-Turan bölgesinde dağılım gösterirken, *A. arsusianum* ve *A. reuteri* İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin kesişiminde bulunur (Özçelik ve Muca, 2010). Bu taksonlar arasında *A. gypsophiloides*, İran-Turan elementlerine dahildir.

*A. arsusianum*, Türkiye’de Osmaniye ve Hatay’da, ve Suriye’de ise Türkiye sınırına yakın kesimlerde yayılış gösterir. Bu tür kserofitik ve kasmofitik özelliklere sahiptir ve Türkiye ve Dünya’da nadiren yayılım gösteren endemik olmayan bir türdür (Özçelik ve Muca, 2010). Suriye ve Lübnan’da doğal yayılışının tespit edilmesi (Marhold, 2011) nedeni ile Türkiye’de endemik olarak kaydedilen *A.*

*arsusianum* (Huber-Morath, 1967) bu statüsünü kaybetmiştir. Türkiye'ye endemik bir tür olan *A. reuteri* ise çok az ya da hiç toprak tabakasının olmadığı bölgelerde ve volkanik kayalar üzerinde güçlü kök sistemleri geliştiren nadir bir türdür (Özçelik ve Muca, 2010). Bu endemik takson, Ekim ve ark. (2000) tarafından IUCN'e göre nesli tükenmekte olan (EN) tür sınıfına kategorize edilmiştir.

*A. gypsophiloides*, Siirt, Batman, Mardin ve Şanlıurfa illerinde yayılış gösterir ve kısmi kireçtaşı içeren volkanik ya da çakıltası alanlarda bulunur. Tarım alanlarında, nehir kenarlarında ve bol güneş alan güney yamaçlarında yetişir (Özçelik ve Muca, 2010). Bu takson aynı zamanda Lübnan, Suriye, Filistin, Sina, Kuzey Irak ve İran'da da yayılım gösterir (Huber-Morath, 1967).

*Ankyropetalum* cinsi ile ilgili Türkiye'de iki tez çalışması (Muca, 2009; Güney, 2009) yapılmıştır. Ayrıca münferit olarak bu cinsin de dahil olduğu çeşitli çalışmalarda (Özçelik ve ark., 1992; Özçelik ve Yıldırım, 2011; Korkmaz ve Özçelik, 2011; Muca ve Özçelik, 2014) mevcuttur. Bu çalışmalar ile cinsin üyelerinin anatomik, morfolojik, palinolojik, sistematik, ekolojik özellikleri, ekonomik özellikleri ile kullanım olanakları tespit edilmeye çalışılmıştır. Fakat bu çalışmalar içinde *Ankyropetalum* cinsi üyeleri ile ilgili herhangi bir moleküler çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmanın temel amacı ise, ülkemizde yayılış gösteren *Ankyropetalum* Fenzl taksonları arasındaki akrabalık ilişkilerini ortaya çıkarmak ve *Ankyropetalum* Fenzl taksonlarının DNA parmak izlerini ortaya koymaktır. Aynı zamanda moleküler teknikler arasında ISSR tekniğinin bu tür çalışmalarındaki uygunluğu ve en uygun primeri (polimorfik) belirlemek amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

*Ankyropetalum* cinsinin dahil olduğu Caryophyllaceae (Karanfilgiller) familyasının Türkiye’de 37 cinsi ve 657 türü bulunmaktadır (Güner ve ark., 2012).

*Ankyropetalum* cinsine ait taksonlar, polimorfik yapılarından dolayı sistematik yönden sorunludur. *Ankyropetalum* cinsi ilk defa Fenzl tarafından Silenoideae alt familyasına ait bir cins olarak tanımlanmıştır. Sonradan bazı araştırmacılar *Ankyropetalum* cinsinin farklı bir cins olabileceğini düşünürken, bazı araştırmacılar da *Ankyropetalum* cinsini *Gypsophila* cinsine dahil etmiştir (Güney, 2009).

*Ankyropetalum* üyelerini *Gypsophila* L. cinsinden ayırt etmek çok zordur. Ancak bu cinsin türleri dikkatle incelendiğinde petallerinin uçta parçalı ve sepallerden uzun olması, stamenlerinin perianttan dışarı çıkmış olması, meyvelerinin tabandan yarıklarla açılır olması ve olgun tohum sayısının en fazla 3 olması gibi özellikleriyle *Gypsophila* cinsinden ayrılmaktadır (Özçelik ve ark., 1992).

Dünya’da 4 türü mevcut olan *Ankyropetalum* cinsinin gen merkezi Türkiye’nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi ile Akdeniz Bölgesi’nin kesişme alanıdır (Özçelik ve Muca, 2010; Marhold, 2011).

*Ankyropetalum* Türkiye’de; *A. arsusianum* Kotschy ex Boiss., *A. reuteri* Boiss. & Hausskn. ve *A. gypsophiloides* Fenzl olmak üzere üç takson ile temsil edilen bir cinstir. Cinsin üyeleri esas itibarıyla Güneydoğu Anadolu, kısmen de bu bölgeye sınır olan Akdeniz bölgemizde yayılış göstermektedirler. (Özçelik ve Muca, 2010; Güner ve ark., 2012).

*Ankyropetalum*, *Gypsophila* ve *Saponaria* cinsleri Türkiye’de “Çöven otu”, genel adıyla bilinmektedir. *Ankyropetalum* cinsi üyeleri genel olarak çok yıllık *Gypsophila* türlerine benzediğinden ve zor ayırt edildiğinden aynı isimle bilinir ve benzer amaçlarla kullanılmaktadır (Özçelik ve Muca, 2010).

*A. gypsophiloides*'in çok eskiden Siirt ve Batman civarından köklerinin kervanlarla ihraç edildiği ve “Helva kökü, Çöven otu, Sabun otu, Helva otu” gibi isimlerle bilindiği ve “Siirt tatlısı” adı verilen yöresel bir gıdanın hazırlanmasında kullanıldığı kaydedilmektedir. *A. reuteri*'ye de Gölbaşı (Adıyaman) tarafında yöre halkı tarafından “Keven” adı verilmekte; samana karıştırılıp hayvanlara yedirilmekte ve eskiden yem amaçlı kullanıldığı söylenmektedir (Özçelik ve Muca, 2010).

Bitkilerin genetik yapısını oluşturan DNA zincirlerinin analizini sağlayan moleküler markörler, bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde %100'e yakın güvenilirlikle değerlendirilmektedir (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Bitkilerde genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için kullanılan ilk DNA markörü RFLP olmuştur. Maliyetinin çok yüksek ve yavaş olması PCR'a dayalı moleküler markörlerin gelişmesine neden olmuştur ki bunlara RAPD, AFLP ve mikrosatellitler örnek verilebilir (Doğan, 2006).

Bitki çeşitleri arasındaki genetik farklılığı ortaya çıkarmak ve en uygun moleküler markör tekniğini belirlemek için yöntemlerin karşılaştırılmaları yapılmıştır. Polimorfizm bakımından SSR (Simple Sequence Repeat) ve AFLP markörleri, maliyet bakımından RAPD ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) teknikleri, tekrarlı birlik bakımından RFLP, SSR, ISSR ve AFLP markörlerinin avantajlı oldukları belirlenmiştir (Karadut ve Kafkas, 2013).

ISSR yöntemi, yüksek polimorfizm ve üretkenlik gibi özelliklere sahip olması nedeniyle genetik benzerlik, gen haritalama ve taksonomi çalışmalarında kullanılabilme imkanı sağlamaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

Gürkök (2009), tarafından Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren *Papaver L.* cinsinin *Oxytona* seksiyonu içerisinde yer alan *Papaver bracteatum*, *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale* türleri üzerinde yapılan çalışmada; bu üç türe ait farklı bölgelerden toplanmış 180 bitki örneğinde ISSR tekniği ile moleküler

karakterizasyon yapılmıştır. 20 ISSR primeri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 180 bitkide polimorfizm oranı %96.97 olup toplam 82 bant oluşturmuş 80 polimorfik bant elde edilmiştir.

Karadut ve Kafkas (2013), yeni geliştirilen ISSR primerleri ile antepfıstığında, 618'i polimorfik olmak üzere toplam 791 bant, cevizde 395'i polimorfik olmak üzere toplam 613 bant, elmada, 496'sı polimorfik olmak üzere toplam 696 bant, kayısıda, 429'u polimorfik olmak üzere toplam 666 ve kirazda ise 281'i polimorfik olmak üzere toplam 514 bant elde etmişlerdir.

Genişel (2013) tarafından yapılan çalışmada, 14 adet bilinen *Colchicum* (acı çiğdem) türü ve 20 adet acı çiğdem yeni tür adayının genetik çeşitliliğinin belirlenmesi için 100 adet ISSR primeri kullanılmıştır. ISSR analizinde 23 primer, tümü polimorfik olan toplam 799 adet skorlanabilir bant sağlamıştır. Polimorfizm oranı %100'dür. En yüksek bant sayısı UBC 827 primeri kullanılarak elde edilmiştir. Bu analiz ile 52 polimorfik bant meydana gelmiştir.

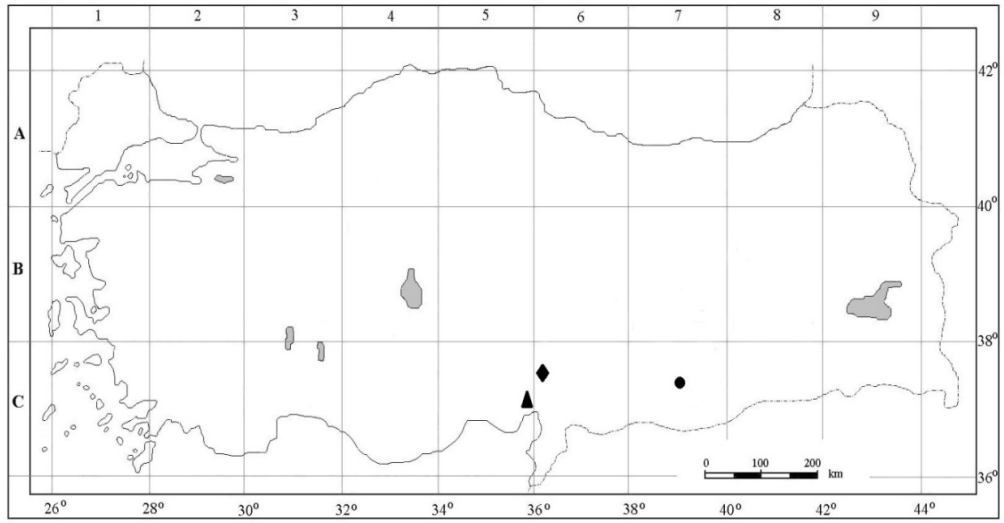
Bozkurt (2009) tarafından Türkiye'de doğal yayılış gösteren *Vicia sativa* varyeteleri ve *Vicia cracca* alt türleri ve dış grup olarak seçilen *Vicia hybrida* ve *Vicia palaestina* türleri olmak üzere 10 takson üzerinde çalışma yapılmıştır. 9 ISSR primeri ile elde edilen amplifikasyon sonucuna göre, taksonların birbirlerine %55 oranında yakın (UBC 808) akraba oldukları gözlenmiştir.

Arslan ve Tamkoç (2011) *Poa angustifolia* ve *Poa trivialis* türleri üzerinde genetik akrabalığı ve tür içi genetik çeşitliliği belirlemek için yapılan çalışmada 20 seçilmiş ISSR primeri kullanılarak 363'ü polimorfik (%90,52) olan toplam 401 bant üretilmiştir.

## 3. MATERYAL ve YÖNTEM

## 3.1. Materyal

Huber-Morath (1967), Muca (2009) ve Güney (2009) yayınlarından yararlanarak *Ankyropetalum* cinsinin üç taksonunun doğal habitatları belirlendi. *A. arsusianum*, *A. reuteri* ve *A. gypsophiloides* bitkileri sırasıyla Osmaniye, Gaziantep ve Şanlıurfa illerindeki doğal populasyonlarından toplanmıştır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. *Ankyropetalum* cinslerinin coğrafik konumları; Osmaniye; *A. arsusianum* (▲), Gaziantep; *A. reuteri* (●), Şanlıurfa; *A. gypsophiloides* (◊)

## 3.2. Yöntem

## 3.2.1. Yaprak örneklerinin toplanması

Her üç takson belirlenmiş olan lokalitelerden toplanmıştır (Çizelge 3.1). Bitkilerin zarar görmeden toplanan yaprakları hemen sıvı azotta (-196°C) dondurulmuş ve DNA ekstraksiyonu yapılanaya kadar -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. DNA ekstraksiyonu için yaprak örnekleri alanda bulunan aynı taksonun farklı populasyonlarından alınmıştır.

Çizelge 3.1. *Ankyropetalum* Fenzl taksonlarının toplandığı lokaliteler

Örnek no	Takson	Lokalite
A1	<i>Ankyropetallum gypsohiloides</i>	Bozova, Işınlı köyü, yol kenarı yamaçlar, 408 m, 04.VI.2014
A2	<i>Ankyropetallum reuteri</i>	Nurdağı-Türkoğlu yolu, 2 km, Belpınar köyü girişi, yol kenarı yamaçlar, 537 m, 11.VI.2014
A3	<i>Ankyropetallum arsusianum</i>	Osmaniye-Ceyhan otobanı, 29 km, yol kenarı yamaçlar, 228 m, 11.VI.2014

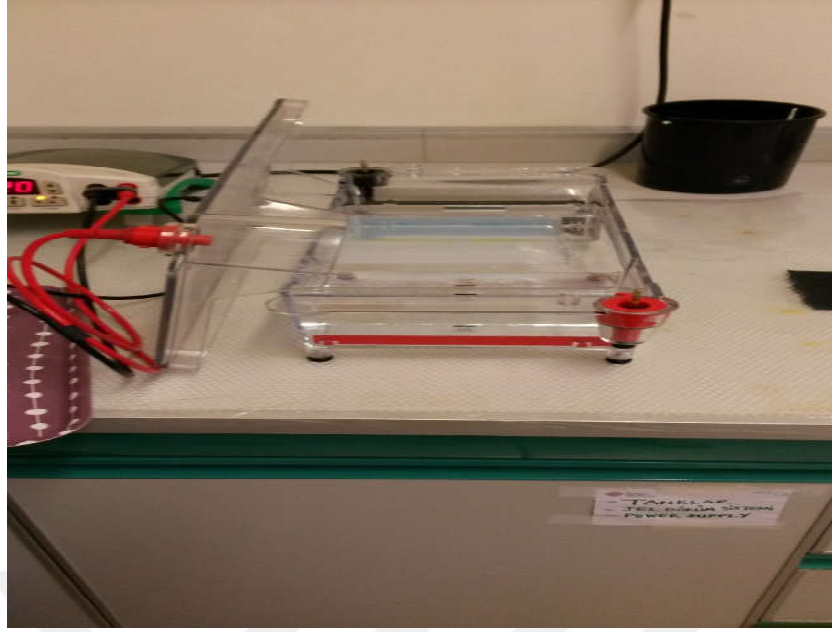
### 3.2.2. DNA örneklerinin izolasyonu

GeneJET bitki genomik DNA saflaştırma Mini Kitinden (Thermo Fisher Scientific Inc., MA USA) sağlanan protokol doğrultusunda total genomik DNA, 100 mg'lık donmuş yaprak dokularından elde edilmiştir.

### 3.2.3. DNA konsantrasyonlarının belirlenmesi

PCR temelli DNA moleküler markör tekniklerinde DNA konsantrasyonunun belirlenmesi önem teşkil etmektedir. NanoPhotometer® Pearl (Denville®, MA USA) cihazı ile izole edilen DNA miktarı belirlenmiş ve ardından % 1.0 agaroz jel elektroforezi ile kalite kontrolü ve gereken seyreltmeler yapılmıştır (yaklaşık 10 ng/mL) (Şekil 3.2., Çizelge 3.2.).





Şekil 3.2. Elektroforez cihazı

Çizelge 3.2. Elde edilen DNA konsantrasyonları; 1. *Ankyropetallum gypsophiloides*; 2. *Ankyropetallum reuteri*; 3. *Ankyropetallum arsusianum*

Örnek No	DNA (ng/uL)
1.1	104
1.2	94.1
1.3	139
2.1	69.3
2.2	61.9
2.3	106
3.1	104
3.2	79.2
3.3	74.3

#### 3.2.4. ISSR - PCR uygulamaları

ISSR markör analizi için British Columbia Üniversitesinden elde edilen 46 adet ve ISSR64 ve ISSR65 olmak üzere 48 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerler birçok makaleden materyale uygun olarak seçilmiştir. Primer sekansları

IDT (USA)'den sentezlenmiştir. Optimize PCR reaksiyonu, 30 ng DNA, 1X tampon, 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM dNTP, 0,4 µM primer ve 1U Taq DNA polimeraz enziminden oluşmuştur (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. PCR cihazı

ISSR reaksiyonunda kullanılan 41 primere ait veriler Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. ISSR PCR'da kullanılan ve çoğalma gösteren primerler ile T<sub>m</sub> dereceleri

No	Primer Adı	5'-3' Motif	T <sub>m</sub> (°C)
1	UBC 808	(AG) <sub>8</sub> C	38
2	UBC 811	(GA) <sub>8</sub> C	38
3	UBC 812	(GA) <sub>8</sub> A	38
4	UBC 814	(CT) <sub>8</sub> A	45
5	UBC 816	(CA) <sub>8</sub> T	48
6	UBC 817	(CA) <sub>8</sub> A	48
7	UBC 819	(GT) <sub>8</sub> A	48
8	UBC 821	(GT) <sub>8</sub> T	48
9	UBC 822	(TC) <sub>8</sub> A	48
10	UBC 824	(TC) <sub>8</sub> G	45
11	UBC 825	(AC) <sub>8</sub> T	38
12	UBC 826	(AC) <sub>8</sub> C	53
13	UBC 827	(AC) <sub>8</sub> G	53
14	UBC 828	(TG) <sub>8</sub> A	48
15	UBC 830	(TG) <sub>8</sub> G	53

16	UBC 834	(AG) <sub>8</sub> YT	45
17	UBC 840	(GA) <sub>8</sub> YT	45
18	UBC 842	(GA) <sub>8</sub> T	45
19	UBC 846	(CA) <sub>8</sub> RT	48
20	UBC 848	(CA) <sub>8</sub> RG	53
21	UBC 850	(GT) <sub>8</sub> YC	48
22	UBC 851	(GT) <sub>8</sub> YG	53
23	UBC 855	(AC) <sub>8</sub> YT	53
24	UBC 856	(AC) <sub>8</sub> YA	53
25	UBC 861	(ACC) <sub>6</sub>	57
26	UBC 864	(ATG) <sub>6</sub>	45
27	UBC 865	(CCG) <sub>6</sub>	57
28	UBC 867	(GGC) <sub>6</sub>	57
29	UBC 868	(GAA) <sub>6</sub>	45
30	UBC 873	(GACA) <sub>4</sub>	38
31	UBC 874	(CCCT) <sub>4</sub>	48
32	UBC 878	(GGAT) <sub>4</sub>	48
33	UBC 880	(GGAGA) <sub>3</sub>	38
34	UBC 881	(GGGTG) <sub>3</sub>	48
35	UBC 885	CGTACTCGT(GA) <sub>7</sub>	48
36	UBC 887	GCG(TC) <sub>7</sub>	48
37	UBC 888	CGTAGTCGT(CA) <sub>7</sub>	48
38	UBC 889	AGTCGTAGT(AC) <sub>7</sub>	48
39	UBC 891	AGTCGTAGT(TG) <sub>7</sub>	48
40	ISSR64	ACA(GT) <sub>7</sub>	48
41	ISSR65	CAC(TG) <sub>7</sub>	48

Yapılan PCR çalışmasına ait bilgiler Çizelge 3.4'de verilmiştir. PCR reaksiyonları 25 µl son hacimde yapılmıştır. ISSR analizlerinde, PCR uygulamaları MyCycler™ Thermal Cycler (BioRad, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. ISSR-PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

PCR Bileşenleri	Konsantrasyon	Miktar (µL)
Tampon (5X)	1X	5 µL
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	2 mM	2 µL
dNTP (10 mM)	0,25 mM	1,25 µL
ISSR Primer (10µM)	0,4 µM	1 µL
Taq DNA Polimeraz (5U/µl)	1 U/µl	0,2 µL
DNA	30 ng	3 µL
dH <sub>2</sub> O	-	12,55 µL

Ön denatürasyon adımı 95 °C’de 3 dakika sürdü sonrasında denatürasyon adımı 1 dakika, DNA’ya bağlanma safhası olan annealing ( $T_m+5$ ) 1 dakika ( $T_m$  değerleri Çizelge 3’de verilmiştir ve bağlanma sıcaklıkları her döngüde 0,5 °C azaltılmıştır). Uzama safhası ise 72°C’de 2 dakika boyunca sürmüştür. Bu üç adım 15 kez tekrar ettikten sonra ikinci adım PCR yapılmıştır. Denatürasyon yine 95 °C’de 1 dakika, bağlanma (annealing) ( $T_m-5$ ) 1 dakika, uzama 72°C’de 2 dakika sürmüştür. İkinci PCR adımı 25 kez devam ettikten sonra son uzama safhası ise yine 72°C’de 10 dakika sürmüştür. Bu uygulamalar her primer için ayrı ayrı tekrar edilmiştir. PCR sıcaklık ve döngü koşulları Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.5. ISSR tekniğinin uygulanmasında PCR sıcaklık ve döngü koşulları

PCR safhası	Sıcaklık ve Süre	
Ön Denatürasyon	95 °C ve 3’	
Denatürasyon	95 °C ve 1’	15 Döngü
Bağlanma (Annealing)	$T_m(+5)^{\circ}\text{C}-0,5^{\circ}\text{C}/\text{saykıl}$ ve 1’	
Uzama	72°C ve 2’	
Denatürasyon	95 °C ve 1’	
Bağlanma (Annealing)	$T_m(-5)^{\circ}\text{C}$ ve 1’	25 Döngü
Uzama	72°C ve 2’ (25X)	
Son Uzama	72°C ve 10’	

### 3.2.5. Sonuçların değerlendirilmesi

PCR ürünleri, 1 x TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20mM EDTA) %2’lik agaroz jelde 100V’de 90 dakika yürütülmüş, etidium bromür ile boyanmış ve jeller Gel DocTM XR+System (BioRad, USA) görüntüleme cihazında görüntülenmiştir. ISSR Analizi ile elde edilen sonuçlar, sırasıyla her bir örnekte bant bulunup bulunmaması sonucu doğrultusunda “0” ya da “1” şeklinde puan verilerek değerlendirilmiştir.

Benzerlik katsayıları, Jaccard benzerlik indeksine göre hesaplanmıştır. UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean-Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu) kullanılarak SAHN (Sequential agglomerative hierarchical nonoverlapping – sıralı yığınsal hiyerarşik örtüşmeyen)

kümeleme uygulanmıştır. Dendrogramlar NTSYS-PC Ver. 2.1 uygulaması kullanılarak çizilmiştir (Rohlf, 2001).



## 4. ARAŞTIRMA BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. DNA Analizleri

Çalışmada kullanılan örneklere ait genomik DNA'lar, GeneJET bitki genomik DNA saflaştırma Mini Kitinden (Thermo Fisher Scientific Inc., MA USA) sağlanan protokol doğrultusunda elde edilmiştir. Elde edilen DNA'ların saflık değerleri ve konsantrasyonları NanoPhotometer® Pearl (Denville®, MA USA) cihazı ile belirlenmiş ve kullanıma kadar -20°C'de muhafaza edilmişlerdir.

### 4.2. ISSR Analizleri

Bu çalışmada ISSR tekniği *Ankyropetalum* Fenzl cinsinin üyeleri arasındaki akrabalık ilişkilerini moleküler düzeyde tespit edebilmek için kullanılmıştır. Bu teknikte 48 ISSR primeri denenmiş, bunların 7 tanesinde tekrar çoğaltılabilir bantlar oluşmadığından geriye kalan 41 ISSR primeri kullanılmıştır, bunlardan da 391 bant elde edilmiştir. Çalışma sonunda 372 bant elde edildi, bunun 312 tanesi polimorfik (%83.68) ve 65 tanesi de monomorfiktir (%16.32). ISSR primerleri, 5'-3' motifleri, polimorfik bant sayıları ve her primerin polimorfizm oranı Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Polimorfizm yüzdesi, %83.68'lik bir ortalama ile %57.14 (UBC 865) ile %100 aralığında olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. ISSR PCR’da kullanılan primerler, bağlanma sayıları, çoğalan bantların sayıları ve polimorfizm oranları

No	Primer İsmi	5’-3’ motif	Her Primerin Bağlanma Sayısı	Çoğalan Bantların Toplam Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)
1	UBC 808	(AG) <sub>8</sub> C	12	14	85,71
2	UBC 811	(GA) <sub>8</sub> C	5	6	83,33
3	UBC 812	(GA) <sub>8</sub> A	5	5	100,00
4	UBC 814	(CT) <sub>8</sub> A	7	8	87,50
5	UBC 816	(CA) <sub>8</sub> T	8	9	88,89
6	UBC 817	(CA) <sub>8</sub> A	9	11	81,82
7	UBC 819	(GT) <sub>8</sub> A	10	10	100,00
8	UBC 821	(GT) <sub>8</sub> T	3	5	60,00
9	UBC 822	(TC) <sub>8</sub> A	7	9	77,78
10	UBC 824	(TC) <sub>8</sub> G	9	9	100,00
11	UBC 825	(AC) <sub>8</sub> T	6	6	100,00
12	UBC 826	(AC) <sub>8</sub> C	10	10	90,00
13	UBC 827	(AC) <sub>8</sub> G	7	11	63,63
14	UBC 828	(TG) <sub>8</sub> A	8	10	80
15	UBC 830	(TG) <sub>8</sub> G	7	8	87,50
16	UBC 834	(AG) <sub>8</sub> YT	8	8	87,50
17	UBC 840	(GA) <sub>8</sub> YT	9	13	69,23
18	UBC 842	(GA) <sub>8</sub> T	9	12	75,00
19	UBC 846	(CA) <sub>8</sub> RT	10	12	83,33
20	UBC 848	(CA) <sub>8</sub> RG	4	4	100,00
21	UBC 850	(GT) <sub>8</sub> YC	8	9	88,89
22	UBC 851	(GT) <sub>8</sub> YG	11	16	68,75
23	UBC 855	(AC) <sub>8</sub> YT	10	13	76,92
24	UBC 856	(AC) <sub>8</sub> YA	10	10	100,00
25	UBC 861	(ACC) <sub>6</sub>	9	12	75,00
26	UBC 864	(ATG) <sub>6</sub>	6	8	75,00

Çizelge 4.1. (devam)

27	UBC 865	(CCG) <sub>6</sub>	4	7	57,14
28	UBC 867	(GGC) <sub>6</sub>	5	5	100,00
29	UBC 868	(GAA) <sub>6</sub>	6	8	75,00
30	UBC 873	(GACA) <sub>4</sub>	5	6	83,33
31	UBC 874	(CCCT) <sub>4</sub>	4	6	66,67
32	UBC 878	(GGAT) <sub>4</sub>	7	7	100,00
33	UBC 880	(GGAGA) <sub>3</sub>	5	6	83,33
34	UBC 881	(GGGTG) <sub>3</sub>	10	15	66,67
35	UBC 885	CGTACTCGT(GA) <sub>7</sub>	5	5	100,00
36	UBC 887	GCG(TC) <sub>7</sub>	9	11	81,81
37	UBC 888	CGTAGTCGT(CA) <sub>7</sub>	10	13	76,92
38	UBC 889	AGTCGTAGT(AC) <sub>7</sub>	5	6	83,33
39	UBC 891	AGTCGTAGT(TG) <sub>7</sub>	10	11	90,90
40	ISSR64	ACA(GT) <sub>7</sub>	8	8	100,00
41	ISSR65	CAC(TG) <sub>7</sub>	12	15	80,00
<b>TOPLAM</b>			<b>312</b>	<b>377</b>	<b>83,68</b>

### 4.3. Benzerlik İndeksi ve Genetik İlişki Dendogramı

Benzerlik indeksi formülüne dayanarak türler arası benzerlik oranları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Benzerliğin Jaccard katsayısı, çalışılan mutantlar arasındaki genetik benzerliği gösterir şekilde 0.117 ile 0.351 arasında değişiklik gösterir.

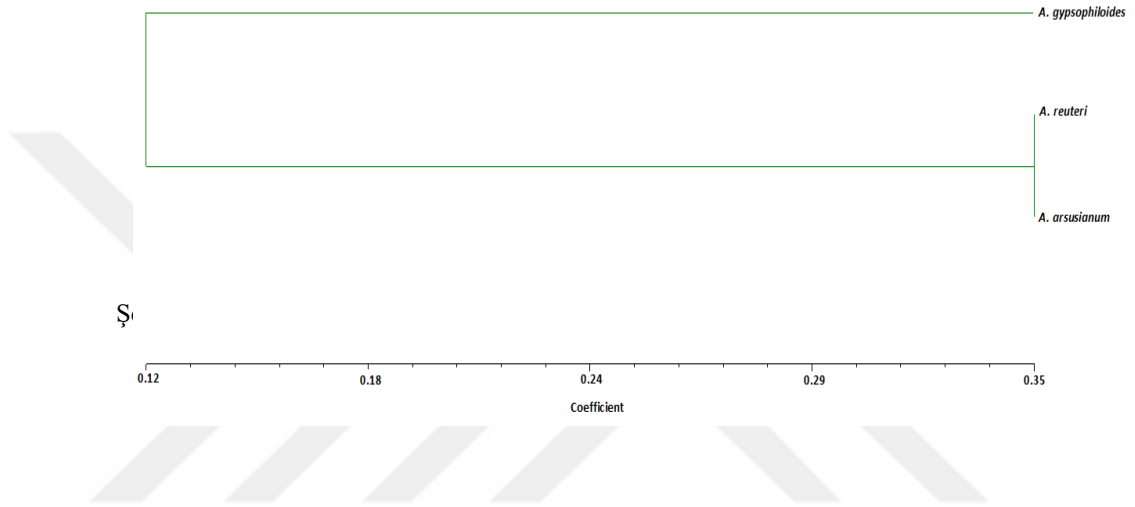
*Ankyropetalum* genotipleri arasındaki maksimum benzerlik, *A. arsusianum* ile *A. reuteri*'de (%35) görülmüştür. Bant sayıları 5 (UBC 812, UBC 821, UBC 867 ve UBC 885) ile 16 (UBC 851) arasında değişmektedir. Polimorfik bantların ve bantların ortalama sayısı, her primer için sırasıyla 9.195 ve 7.610'dur. En fazla polimorfik bant, 16 bant üreten ve 11 polimorfik bantla sonuçlanan (GT)<sub>8</sub>YG'dir, onu da 10 polimorfik bant üreten (AC)<sub>8</sub>YT takip etmektedir.

Çizelge 4.2.. *Ankyropetalum* türleri için oluşturulan Jaccard'ın genetik benzerlik matrisi

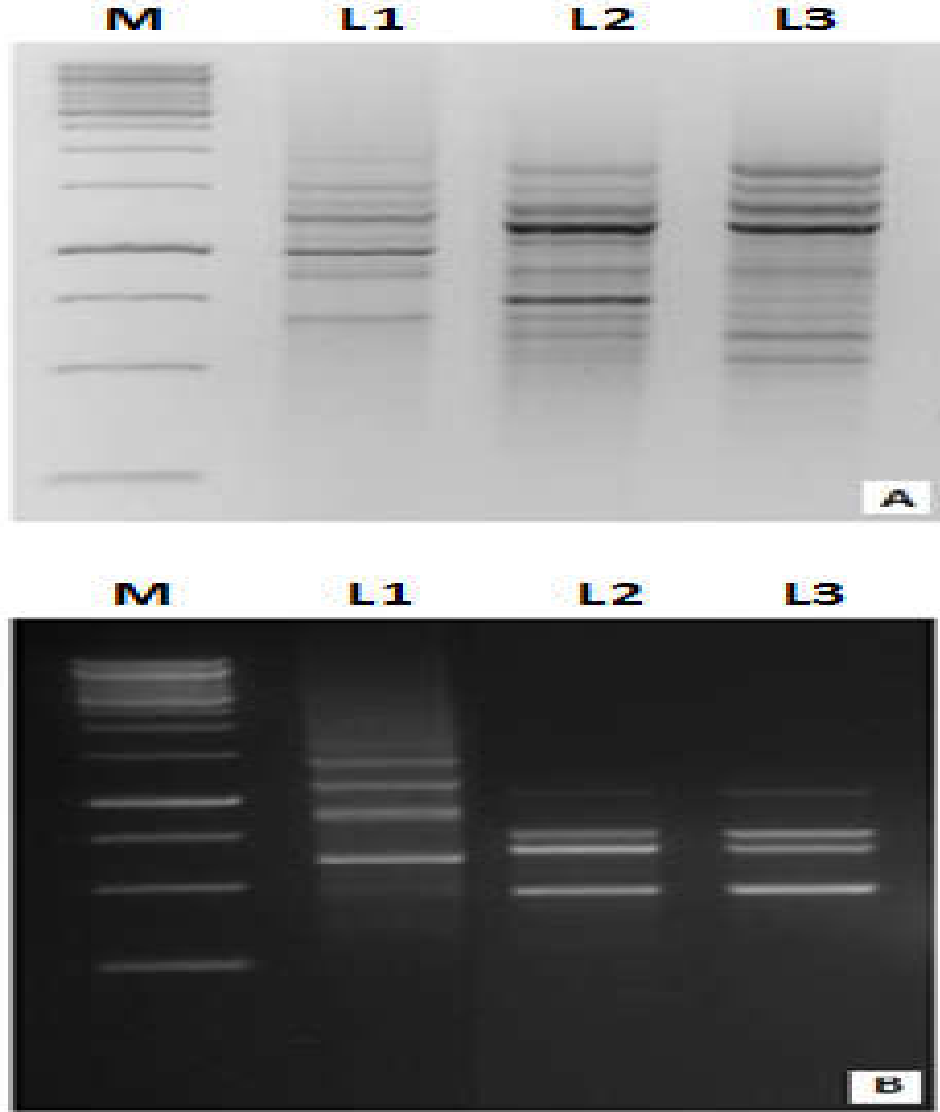
	<i>A. gypsophiloides</i>	<i>A. reuteri</i>	<i>A. arsusianum</i>
<i>A. gypsophiloides</i>	1.0000000		
<i>A. reuteri</i>	0.1169355	1.0000000	
<i>A. arsusianum</i>	0.1286307	0.3507109	1.0000000



Yukarıda elde edilmiş olan benzerlik indeksine göre türler arasındaki genetik benzerliklere dayalı dendrogram verileriye, Rohlf (2001) tarafından geliştirilen NTSYS-PC Ver. 2.1 programı kullanılarak “UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) küme analizi ile belirlenmiştir. Dendrogramda iki ana küme görülmektedir. Mutantlar arasında ISSR bantlarına (1) ya da (0) olarak değer verilmiştir ve UPGMA analizi kullanılmıştır. ISSR datası kullanılarak UPGMA analizi ile yapılan dendrogram Şekil 4.1.’de gösterilmiştir.



*A. gypsophiloidea* çeşitleri tek bir küme ile temsil edilirken, *A. reuteri* ve *A. arsusianum* ikinci kümeyi temsil etmektedir. UBC 881 ve UBC 826 ile olan ISSR amplifikasyonunu temsil eden sonuçlar Şekil 4.2.’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. %2 agaroz jelde UBC 881(a) ve UBC 826 (b) primerlerince oluşturulan *Ankyropetalum* türlerinin ISSR amplifikasyonunun temsili sonuçları. Örneklere ait polimorfiz profillerinin jellere yüklenme sırası şu şekildedir; M: 1 kb DNA ladder; 1. Sıra: *A. gypsophiloides*; 2. Sıra: *A. reuteri*; 3. Sıra: *A. arsusianum*

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

*Ankyropetalum* cinsi *Gypsophila* cinsine oldukça yakındır ancak üç parçadan oluşan petalleri, uzun stamenleri, düzensiz boylamasına çatlakları ile tabandaki patlayan kapsülleri ve sferoid tohumları (basık olmayan) ile ayrılır. *Ankyropetalum* üyeleri, geniş birleştirici lif membranlı kaliksleri ile de *Saponaria*'dan ayrılırlar (Huber-Morath 1967, Rechinger, 1988).

Türkiye'de doğal yayılış gösteren *Ankyropetalum* cinsinin taksonları, Huber-Morath (1967) tarafından temel olarak ilk önce hemen hemen dallanmamış ve nispeten tüysüz (*A. arsusianum*) veya çok dallanmış ve tüylü olarak (*A. reuteri* ve *A. gypsophiloides*), daha sonra ise çok dallanmış ve tüylü taksonlarda kendi aralarında kaliks dişleri, petalin merkez lobu ile petal çengelinin tüylülük durumuna bağlı olarak birbirinden ayrılmıştır.

Günümüzde çok sayıdaki moleküler markör tekniklerinin geliştirilmesi sonucunda, bitki ve hayvan popülasyonlarının genetik analizleri, evrimsel ve ekolojik çalışmaların sayıları çok büyük bir hızda artmıştır (Filiz ve Koç, 2011).

Bitki türlerinin tanımlanmasında uzun zamandır kullanılan morfolojiye dayalı taksonomi gerek çevre gerek iklim koşullarının etkisiyle tanımlama yapılırken yanlış sonuçlar elde edilmesine yol açmaktadır. Ancak her reaksiyonda DNA fragmanlarının büyük sayılarda artmasına olanak sağlayarak oldukça kullanışlı bir alternatif olan ISSR tekniği (Goodarzi ve ark., 2015) filogenetik çalışmalarda, türler içi ve türler arası varyasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, genel olarak Türkiye'de doğal yayılış gösteren üç *Ankyropetalum* türünün genetik benzerliğinin gösterilmesi açısından yapılan ilk çalışmadır. Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan (Gaziantep, Osmaniye, Şanlıurfa) üç *Ankyropetalum* türünün filogenetik ilişkileri belirlenmiştir.

Bu çalışmada, ISSR primerleri kullanılarak Türkiye’de bulunan *Ankyropetalum arsusianum*, *Ankyropetalum reuteri* ve *Ankyropetalum gypsophiloides* taksonlarının genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri analiz edilmiştir. Türlerin, DNA parmak izi analizi ISSR tekniğinde 48 primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polimorfizm derecesi %83.68 olarak kaydedilmiştir. En fazla polimorfik primer 16 band üreten ve 11 polimorfik bantla sonuçlanan (GT)<sub>8</sub>YG motifli primerdir.

ISSR datasına bağlı olarak yapılan küme analizinde, iki ana gruba sahip dendrogram elde edilmiştir. Küme dendrogramı bize, benzerlik katsayılarının 0.117 ile 0.351 aralığında olduğunu göstermiştir. *A. gypsophiloides*, bir küme ile temsil edilirken, *A. arsusianum* ve *A. reuteri* ikinci küme ile temsil edilmektedir. En yüksek genetik benzerlik %35.07 oranı ile Osmaniye’den örneklenen *A. arsusianum* ile Gaziantep’ten alınan *A. reuteri* arasında gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasının sonunda *Ankyropetalum* türlerinin ISSR (Inter Simple Sequence Repeats-Basit Dizi Tekrar Araları) markörleri kullanılarak DNA parmak izi profilleri elde edilmiştir. Böylelikle *Ankyropetalum* cinsinin bilinen türleri ile moleküler karakterizasyonunda ISSR primerleri kullanılarak filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi sağlanmıştır.

Bu tez çalışması *Ankyropetalum* türleri ile ISSR tekniği kullanılarak yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır ve bu çalışma ile ISSR tekniğinin *Ankyropetalum* türleri arasındaki ilişkilerin ve genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi için faydalı bir yöntem olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye’de doğal yayılış gösteren *Ankyropetalum* türlerini ISSR primerleri kullanılarak genetik olarak karakterize etmiş ve ISSR analizlerinin, genetik çeşitlilik çalışılmasındaki önemini göstermiştir. Bu yüzden bu çalışmanın sonuçları ileride yapılacak olan tanımlama ve moleküler markör çalışmalarına kaynak oluşturacak niteliktedir.

## KAYNAKLAR

- ARSLAN, E. and TAMKOÇ, A., 2011. The application of ISSR-PCR to determine the genetic relationship and genetic diversity between narrow leaved bluegrass (*Poa angustifolia*) and rough bluegrass (*Poa trivialis*) accessions. Turkish Journal of Biology, 35: 415-423.
- BOZKURT, M., 2009. İç Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinin Yayılış Gösteren Bazı *Vicia* L. Türleri Arasındaki Akrabalık İlişkilerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 51s.
- BRETTING, P. K., and WIDRLECHNER, M. P. 1995. Genetic markers and horticultural germplasm management. Horticultural Science., 30 (7): 1349-1356.
- DAVIS, P.H. (Ed), 1965-1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vols. 1-9. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- DAVIS, P.H., MILL, R.R. and TAN, K. (Eds.), 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 10 (supplement). Edinburgh University Press, Edinburgh, 590p.
- DOĞAN, Y., 2006. Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşit ve Genotiplerinin Moleküler Markör Teknikleri İle Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 51s.
- EKİM, T., KOYUNCU, M., VURAL, M., DUMAN, H., AYTAÇ, Z. and ADIGÜZEL, N. (Eds.), 2000. Red Data Book of Turkish Plants "Pteridophyta and Spermatophyta". Turkish Association for the Conservation of Nature and Van Centennial University, Ankara, 246p.
- FİLİZ, E. ve KOÇ, İ., 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. Gazi Osmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 28 (2), 207-214.
- GENİŞEL, H., 2013. Türkiye Florası'ndaki Acı Çiğdem (*Colchicum* L.) Yeni Tür Adaylarının Karakterizasyonunda ISSR Markörlerin Kullanımı. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 70s.
- GOODARZI, F., DARVISHZADEH, R. and HASSANI, A., 2015. Genetics Analyses of Costar (*Ricinus communis* L.) Using ISSR Markers, Journal of Plant Molecular Breeding, 3 (1): 18-34.
- GÜLŞEN, O. ve MUTLU, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markörler ve Kullanım Alanları. Alatarım, 4 (2): 27-37.
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T. and BAŞER, K.H.C., 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 11 (supplement). Edinburgh University Press, Edinburgh, 656p.
- GÜNER, A., ASLAN, S., EKİM, T., VURAL, M., BABAÇ, M.T. (edlr.) 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, 1290s.
- GÜNEY, T.A., 2009. Türkiye *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae) cinsinin revizyonu. Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, 76s.
- GÜRKÖK, T., 2009. Türkiye Doğal Florasında Yetişen Papaver Cinsi *Oxytona* Seksiyonuna Ait Gen Havuzunun ISSR Tekniği ile Genetik Karakterizasyonu.

- Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 67s.
- HUBER-MORATH, A., 1967. *Ankyropetalum* Fenzl. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol. 2. (Davis PH Ed.), pp. 147-148. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- JENA, S.N., VERMA, S., NAIR, K.N., SRIVASTAVA, A.K., MISRA, S. and RANA, T.S., 2015. Genetic Diversity and Population Structure of The Mangrove Lime (*Meropeangulata*) in India Revealed by AFLP and ISSR Markers. *Aquatic Botany*, 120: 260-267.
- KHAWAR, K.M., 2001. Mercimek (*Lens culinaris* Medik)'te Doku Kültürü Çalışmaları ve *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Gen Aktarımı Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 147 s., Ankara.
- KARADUT, Ö. ve KAFKAS, S., 2013. Antep Fıstığı SSR Lokuslarından Yeni ISSR Primerlerinin Geliştirilmesi. *Çukurova Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29 (2): 139-148.
- KORKMAZ, M. and ÖZÇELİK, H., 2011. Economic Importance of *Gypsophila* L., *Ankyropetalum* Fenzl and *Saponaria* L. (*Caryophyllaceae*) Taxa of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10 (47): 9533-9541.
- MARHOLD, K., 2011. *Caryophyllaceae*. In: Euro+Med Plantbase-the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameId=100818&PTRefFk=7200000>.
- MUCA, B., 2009. Türkiye *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae) cinsi taksonları üzerinde anatomik, palinolojik, taksonomik ve morfolojik araştırmalar. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 59s.
- MUCA, B. and ÖZÇELİK, H., 2014. Taxonomy and Pollen Morphology of *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae) Species in Türkiye. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17 (4): 482-489.
- ÖZÇELİK, H., AY, G., ve ÖZTÜRK, M., 1992. *Ankyropetalum gypsophiloides* Fenzl. (Caryophyllaceae) Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Araştırmalar, XI. Ulusal Biyoloji Kongresi, Fırat Üniversitesi Elazığ, Botanik Sek., 233-248.
- ÖZÇELİK, H. and MUCA, B., 2010. *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae) Cinsine Ait Türlerin Türkiye'deki Yayılışı ve Habitat Özellikleri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 3 (2): 47-56.
- ÖZÇELİK, H. ve YILDIRIM, B., 2011. Türkiye Çövenlerinin (*Gypsophila* L. ve *Ankyropetalum* Fenzl spp.) Ekonomik Önemi, Kullanım Olanakları ve Korunması Üzerine Düşünceler. Süleyman Demirel Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi, 12: 57-61.
- RECHINGER, K.H., 1988. *Ankyropetalum* Fenzl. In: Flora Iranica "Caryophyllaceae II" (Rechinger KH Ed.), pp. 246-248. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz.
- REDDY, M. P., SARLA, N. and SIDDIQ, E. A., 2002. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and its Application in Plant Breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- ROHLF, F.J., 2001. Comparative Methods for The Analysis of Continuous Variables: Geometric Interpretations. *Evolution*, 55: 2143-2160.

- SCARANO, M. T., ABBATE, L., FERRANTE, S., LUCRETTI, S., and TUSA, N., 2002. ISSR-PCR Technique: a Useful Method for Characterizing New Allotetraploid Somatic Hybrids of Mandarin. *Plant Cell Reports*, 20: 1162–1166.
- SOLLER, M., and BECKMANN, J. S., 1983. Genetic Polymorphism in Varietal Identification and Genetic Improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 67: 25-33.
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H., and BONIERBALE, M.W., 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding, New Tools for an Old Science. *Biotechnology*, 7: 257-264.
- URANBEY, S., 2002. *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Patates (*Solanum tuberosum* L.) Gen Aktarımı ve Patojen İlişkili Genlerin Transgenik Bitkilerdeki Belirtileri, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 174s.
- ZHAO, L., LIU, H., CAI, G., and XIA, M., 2014. Assessment of the genetic diversity and genetic relationships of *Lilium* in China using ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 55: 184-189.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Cengiz ATGÜDEN  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Şanlıurfa / 25.11.1985  
**Telefon** : 0533 052 12 06  
**Fax** : -  
**e-mail** : cengizatguden@hotmail.com

### EĞİTİM

Derece	Ad, İl, İlçe	Bitirme yılı
Lise	:Şanlıurfa Lisesi, Şanlıurfa	2004
Yüksek Okul	: Harran Üniversitesi MYO İnşaat Teknikerliği	2008
Üniversite	: Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012
Yüksek Lisans	:Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2016

### İŞ DENEYİMLERİ

YIL	Kurum	Görev
2010-2012	Star Medikal	Laboratuvar
2012-2015	OSM Hastanesi	Laboratuvar
2015-	Türk Kızılayı	Kan Bağışı Kazanım Uzmanı

**UZMANLIK ALANI** : Botanik

**YABANCI DİLLER** : İngilizce