

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE *EPILOBIUM* L.ve *CHAMERION* (RAFINESQUE)
RAFINESQUE ex HOLUB (ONAGRACEAE) TAKSONLARININ
nrDNA ITS DİZİLERİNE DAYALI AKRABALIK İLİŞKİLERİ

SUZAN KUNDAKÇI

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. SERDAR MAKBUL

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. KAMİL ÇOŞKUNÇELEBİ

YRD. DOÇ. DR. MUTLU GÜLTEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2017
Her Hakkı Saklıdır

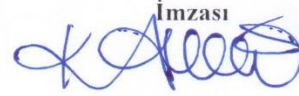
T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE *EPILOBIUM* L. ve *CHAMERION* (RAFINESQUE) RAFINESQUE ex HOLUB
(ONAGRACEAE) TAKSONLARININ nrDNA ITS DİZİLERİNE DAYALI
AKRABALIK İLİŞKİLERİ

Doç. Dr. Serdar MAKBUL danışmanlığında, Suzan KUNDAKÇI tarafından hazırlanan bu çalışmaya, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 22/05/2017 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri Unvanı Adı Soyadı

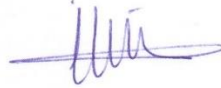
Başkan : Prof.Dr. Kamil ÇOŞKUNÇELEBİ

İmzası


Üye :Doç. Dr. Serdar MAKBUL



Üye :Yrd. Doç. Dr. Mutlu GÜLTEPE




Doç. Dr. Ferhat KALAYCI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Ülkemizde yayılış gösteren *Chamerion* ve *Epilobium* (Onagraceae) taksonlarının moleküler yönden incelendiği bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek konu seçimimde yol gösterici olan, bu çalışmam süresince her türlü yardım ve fedakârlığı sağlayan, bilgi, tecrübe ve güler yüzü ile çalışmama ışık tutan, çalışmamın yöneticisi sayın hocam Doç. Dr. Serdar MAKBUL'e şükranlarımı sunarım. Tez çalışması sırasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Laboratuvar imkanlarını kullanmamıza olanak tanıyan değerli hocam Prof. Dr. Kamil Çoşkunçelebi'ye, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Mutlu GÜLTEPE başta olmak üzere Öğr. Gör. Seda OKUR, Arş. Gör. Seher GÜVEN, Arş. Gör. Murat Erdem GÜZEL ile Biyoloji Bölüm Başkanlığına ve tüm öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu çalışmam sırasında, bana karşı gösterdiği fedakârlığından ve anlayışından dolayı aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Hazırlanan bu Yüksek lisans tezi TÜBİTAK tarafından 113Z782 nolu proje ile desteklenmiştir.

Suzan KUNDAKÇI

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Türkiye *Epilobium* L. ve *Chamerion* (Rafinesque) Rafinesque ex Holub (Onagraceae) Taksonlarının nrDNA ITS Dizilerine Dayalı Akrabalık İlişkileri” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 09/06/2017



Suzan KUNDAKÇI

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

TÜRKİYE *EPILOBIUM* L. ve *CHAMERION* (RAFINESQUE) RAFINESQUE ex HOLUB (ONAGRACEAE) TAKSONLARININ nrDNA ITS DİZİLERİNE DAYALI AKRABALIK İLİŞKİLERİ

Suzan KUNDAKÇI

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Doç. Dr. Serdar MAKBUL

Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren 4 *Chamerion* (Rafinesque) Rafinesque ex Holub. ve 22 *Epilobium* L. taksonu nrDNA ITS bölgesi nükleotit dizileri incelenerek taksonomik açıdan değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan bitki materyalleri 2014-2015 yılları arasında taksonların doğal yayılış alanlarından toplanmıştır. Toplanan taksonlara ait herbaryum örnekleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (RUB) depolanmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) uygulamaları ile çalışılan taksonların total genomik DNA'ları, herbaryum örneklerinden ya da silika jel içerisinde kurutulmuş olan sağlıklı, olgun ve taze yapraklardan elde edilmiştir. Stok materyallerden DNA'ların elde edilmesinde CTAB yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. PZR ile elde edilen nrDNA ITS bölgesinin nükleotit dizin analizleri gerçekleştirilmiştir. MEGA versiyon 5.05 programı kullanılarak taksonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren ağaç topolojileri elde edilmiştir. Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren *Chamerion* ve *Epilobium* taksonları moleküler yönden ilk kez değerlendirilmiştir. Çalışılan *Chamerion* taksonlarının nrDNA ITS bölgelerinin nükleotit uzunluklarının 616 bp olduğu, % G-C içeriğinin 53,4-54,1 arasında değiştiği tespit edilmiştir. *Epilobium* taksonlarına ait nrDNA ITS bölgelerinin nükleotit uzunluklarının 616-620 bp olduğu, % G-C içeriklerinin 55,3-56,8 arasında değiştiği belirlenmiştir. ITS verilerine göre *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerine ait taksonların elde edilen filogenetik ağaçlarda farklı kollarda gruplandıklarını ve dış grup taksonlardan net olarak ayrıldığını ortaya koymaktadır. Yapılan analizler *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerinin monofiletik olduğu görüşünü desteklemektedir.

2017, 86 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Chamerion*, *Epilobium*, ITS, nrDNA, Türkiye

ABSTRACT

RELATIONSHIPS AMONG TURKISH *EPILOBIUM* L. and *CHAMERION* (*RAFINESQUE*) *RAFINESQUE* ex *HOLUB* (*ONAGRACEAE*) TAXA INFERRED FROM nrDNA ITS PROFILE

Suzan KUNDAKÇI

Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serdar MAKBUL

In this study, nrDNA ITS regions of 4 *Chamerion* (*Rafinesque*) *Rafinesque* ex *Holub*. and 22 *Epilobium* L. taxa which are widespread in our country were firstly investigated in detail and assessed in a taxonomic stand point according to nucleotide sequences. The plant materials used in the study were collected between 2014-2015 from natural habitats of the taxa. The plant materials were pressed and deposited as herbarium specimens in Recep Tayyip Erdoğan University Department of Biology Herbarium. The total genomic DNAs of the taxa which are used for Polymerase Chain Reactions (PCR) were obtained from herbarium samples or healthy, mature and fresh leaves that were dried in silica gel. CTAB method was modified and used in obtaining of genomic DNA from stored materials. Relationships of the examined *Chamerion* and *Epilobium* were determined using analyses with MEGA version 5.05 software. In this study, molecular features of *Chamerion* and *Epilobium* taxa which are spreading in our country were investigated in detail for the first time. It was determined that the nrDNA ITS region of the studied *Chamerion* taxa is 616 base pairs in length. Besides, the rate of % G-C was found to vary between 53,4-54,1. It was defined that the nrDNA ITS region of the studied *Epilobium* taxa is 616-620 base pairs in length. In addition, the rate of % G-C was found to vary between 55,3-56,8. According to ITS data, it was revealed that members of the *Chamerion* and *Epilobium* are grouped into different branches in phylogenetic trees and these taxa are sharply different from the out-group. The analyses also support the views that *Chamerion* and *Epilobium* is monophyletic.

2017, 86 pages

Keywords: *Chamerion*, *Epilobium*, ITS, nrDNA, Turkey

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	II
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	X
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.1.1. <i>Epilobium</i> (<i>Chamerion</i> dahil) Cinsinin Dağılımı ve Bitkisel Özellikleri	2
1.1.2. <i>Epilobium</i> (<i>Chamerion</i> dahil) Cinsi Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer Çalışmalar	5
1.1.3. <i>Epilobium</i> (<i>Chamerion</i> dahil) Cinsinin Etnobotaniksel Özellikleri	17
1.2. Bitki Sistematiğinde Moleküler Verilerin Önemi.....	19
1.2.1. İçsel Kopyalama Bölgesi (ITS).....	22
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	28
2.1. Çalışma Materyali.....	28
2.2. Moleküler Çalışmalar	30
2.2.1. DNA İzolasyonu	30
2.2.2. ITS Gen Bölgesinin PCR Çalışması İle çoğaltılması	31
2.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	31
2.2.4. Nükleotit Dizin Analizlerinin Gerçekleştirilmesi	32
2.2.5. Dizi Hizalama ve Filogenetik Analiz.....	32
3. BULGULAR.....	34
3.1. ITS Dizin Özellikleri	34
3.1.1. İncelenen <i>Chamerion</i> Taksonlarının Filogenetik İlişkileri.....	35
3.1.2. İncelenen <i>Epilobium</i> Taksonlarının Filogenetik İlişkileri	35
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	43
5. ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	53

EKLER.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	86



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. ITS bölgesinin yapısı ve yerleşim şeması (Mateos ve Markow, 2005).....	23
Şekil 2. ITS primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri	23
Şekil 3. SSU (küçük altbirim) ve LSU (büyük altbirim) rRNA nükleus üzerindeki yerleşimi.....	25
Şekil 4. ITS bölgesinin MP analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç	40
Şekil 5. ITS bölgesinin ML analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç	41
Şekil 6. ITS bölgesinin NJ analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç	42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çalışılan taksonlara ait populasyon bilgisi	29
Tablo 2. GenBank' tan temin edilen taksonlar	29
Tablo 3. PCR döngü şartları	31
Tablo 4. <i>Chamerion</i> taksonlarının ITS dizi uzunlukları (bç) ve % GC içeriği.....	37
Tablo 5. <i>Epilobium</i> taksonlarının ITS dizi uzunlukları (bç) ve % GC içeriği	37
Tablo 6. Taksonlar arasında ITS bölgesine dayalı parsimonik bilgi verici nükleotit pozisyonları	38
Tablo 7. ITS bölgesine göre çalışılan tüm taksonlara ait "Benzemezlik Matriksi"	39

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
bp	Baz Çifti
cpDNA	Kloroplast DNA
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETS	External Transcribed Spacer
EST	İşaretli İfade Edilen Diziler (Expressed Sequence Tag)
IGS	Intergenic Spacer
ITS	Internal Transcribed Spacer
mtDNA	Mitokondriyal DNA
LSU	Büyük Alt Birim
nrDNA	Nüklear Ribozomal DNA
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVPP	Polivinil Polipropidilen
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
rDNA	Ribozomal DNA
RFLP	Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nukleotide Polymorphism)
SRAP	Diziye İlişkin Çoğaltılmış Polimorfizm
SSR	Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeat)
SSU	Küçük Alt Birim

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitkiler, insanlık için eski zamanlardan günümüze kadar yaşam için vazgeçilmez ana kaynaklardan birisi olmuştur. Bu nedenle insanlık tarihi boyunca bitkiler farklı amaçlarla kullanılmış ve birçok araştırmaya konu olmuşlardır (Dağcı ve Dığrak, 2005). Dünya üzerinde tahmini 500,000 bitki türü olduğu ve bunların giyim, yeme, barınma gibi çeşitli amaçlar doğrultusunda kullanıldığı bilinmektedir (Borris, 1996). Ülkemizin bitki çeşitliliği bakımından zengin bir floristik yapıya sahip olduğu bilinmektedir (Başer, 1997, 1998). Bu zenginlik Türkiye'nin sahip olduğu coğrafik konumu, jeolojik özellikleri, farklı toprak yapısı, değişik iklim türlerinin etkisi altında olması ve üç farklı fitocoğrafik bölgenin birleştiği yerde olması gibi kendine has özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Avcı, 2005). Bu özellikler ayrıca ülkemizin birçok bölge florasından örneklerle sahip olmasını, çok sayıda taksonun köken ve evrimleşme merkezinin Anadolu olmasını ve yüksek endemizm oranına sahip olması sonucunu doğurmuştur (Tan, 1992, 1998). Ülkemizde var olduğu bilinen 12000'nin üzerindeki bitki taksonununun 3000'den fazlası endemik olup endemizm oranı %34 civarındadır (Güner, 2012).

Günümüzde bilimde yaşanan hızlı gelişmeler bitkiler üzerindeki taksonomik çalışmaların da gelişmesine ışık tutmuştur. Morfolojik çalışmaların yanı sıra kromozom, polen, anatomik ve moleküler özelliklerin belirlenmesi ile beraber birçok bitki grubunun bitkisel özellikleri tespit edilmiştir. Böylece taksonomik olarak problemlili olan birçok bitki grubunun sorunları giderilerek bitkilerin daha güvenilir metodlarla tanınmaları sağlanmıştır. Taksonomik olarak problemlili cinslerden birisi de Türkiye Florası kayıtlarına göre ülkemizde 26 taksonla temsil edilen *Epilobium* L. cinsidir (Raven ve Chamberlain, 1972).

Bitki taksonomisinde taksonların daha kolay ayrılmasını sağlamak üzere morfolojik verilere desteklik sağlamak amacı ile moleküler çalışmalardan da sıklıkla yararlanılmaktadır (Baldwin vd., 1995; Levin vd., 2003). *Epilobium* ve *Chamerion* mensupları taksonomik açıdan çözüm bekleyen sorunlar içermektedir. Bu bağlamda iki grup üzerinde bazı morfolojik, anatomik, palinolojik, sitolojik ve ekolojik çalışmalar

yapılmıştır (Chamberlain ve Raven, 1972; Baum vd., 1994; Krajsek vd., 2006; Wagner vd., 2007). Ancak moleküler olarak yapılan çalışmaların sayısı cinslere ait toplam tür sayısı dikkate alındığı zaman çok azdır.

Chamerion ve *Epilobium* cinsi ile ilgili yapılan literatür araştırmalarına göre kozmopolit yayılış göstermesi, morfolojik olarak benzer taksonları içermesi, melez türlerin mevcudiyeti ve poliploidinin görülmesi sebebiyle taksonomik bakımdan problemliler cinsler olduğu tespit edilmiştir. Bu durum *Chamerion* ve *Epilobium* cinsi mensuplarını birbirinden ayırt etmede zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır. Güncel taksonomide problemlilerin giderilmesi aşamasında moleküler verilerden fazlaca yararlanılmasına karşın *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerine ait taksonların ayırımında moleküler bazlı verilerin çok fazla kullanılmadığı görülmektedir. Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren 4 *Chamerion* ve 22 *Epilobium* taksonlarının nüklear DNA ITS bölgesi nükleotit sıraları tespit edilmiştir. Elde edilen nükleotit dizinleri ayrıca moleküler analizler ile değerlendirilerek taksonlar arası filogenetik ilişkilerin oluşturulan bir ağaç üzerinde görülmesi sağlanmıştır. Ayrıca moleküler verilerden elde edilen sonuçların bu iki cinsin taksonomik problemlerinin çözümüne katkı sağlaması amaçlanmıştır.

1.1.1. *Epilobium* (*Chamerion* dahil) Cinsinin Dağılımı ve Bitkisel Özellikleri

Epilobium L., Onagraceae familyasının en fazla takson sayısına sahip kozmopolit bir cinsidir (Ford ve Gottlieb, 2007). Geniş bir coğrafik alanda yayılış gösteren familya, dünyada yaklaşık 655 tür ve 17 cins ile temsil edilmekte olup bu türlerin büyük çoğunluğu yeni dünyada bulunmaktadır (Raven, 1988; Mabberley, 1997). Ancak bütün taksonomik gruplarda görülen sayısal değişiklikler bu familya için de geçerli olup en son güncel veriler familyanın 24 cins ve 650 türle temsil edildiğini göstermektedir (Simpson, 2011). Onagraceae familyası mensupları genellikle Amerika kıtasında yayılış göstermektedir. Bununla birlikte familyaya ait *Chamerion* cinsinin Asya, Avrupa ve Afrika kıtalarında da önemli bir dağılıma sahip olduğu belirtilmiştir (Ford ve Gottlieb, 2007). Onagraceae familyanın Türkiye Florası'nda 4 cins ve 33 takson ile temsil edildiği belirlenmiştir (Güner, 2012). Dünyada geniş bir yayılış alanına sahip olan familyanın en önemli cinslerinden *Epilobium* cinsi güncel verilere göre dünyada 170 türle temsil edilmektedir (Sklarva vd., 2008). Yapılan araştırmalar, cinsin Avrupa Florası (Haussknecht, 1884)'nda

31 takson, İnan Florası (Raven, 1964)'nda 29 takson, İtalya Florası (Pignatti, 1982)'nda 16 takson ve Kıbrıs Florası (Meikle, 1977-1985)'nda 5 takson ile temsil edildiğini göstermiştir. Wagner vd. (2007), *Chamerion* üyesi 9 taksondan 6 tanesinin Avrupa ve Asya kıtalarında yayılış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Epilobium cinsinin taksonomik durumu geçmişten beri birçok bilim adamı için tartışma konusu olmuştur. Bazı bilim adamları *Chamerion* üyelerini *Epilobium* cinsinden ayrı bir cins olarak ele alırken bazıları da *Epilobium* cinsi altında değerlendirilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Salisbury (1807) *Chamaenerion* Adans. adını verdiği cinsin *Epilobium*'dan farklı bir cins olduğunu belirten ilk kişidir. Benzer şekilde Raimann (1893), Engler ve Prantl'ın sınıflandırma sistemindeki gibi *Chamaenerion*'u *Epilobium*'dan ayrı bir cins olarak ele almıştır. Rus Florasında (Steinberg, 1949) *Epilobium* ve *Chamaenerium* Adans. ayrı birer cins olarak ele alınmıştır. Raven (1962), bu iki cinsi ayıracak karakterlerden hiçbirinin kendine özgü olmadığını dolayısı ile *Chamaenerion* Taussch. seksiyonu olarak değerlendirilmesi gerektiğini iddia etmiştir. Bununla beraber Baum vd. (1994) *Chamerion* (= *Chamaenerion* Taussch.) üyelerinin *Epilobium* cinsi mensupları ile kardeş grup oluşturduğunu ve bu yüzden ayrı bir cins olması gerektiğini savunmuştur. Bu nedenle son dönemlerde gerçekleştirilen çok sayıda floristik çalışmada ve floralarda *Chamerion* cins olarak ele alınmıştır (Strid, 1986; Stace, 2000; Snogerup, 2010). Bu iki cins üzerindeki en güncel değerlendirme Wagner vd. (2007) tarafından yapılmış olup bu iki cinsin çok önemli bitkisel farklılıklar içerdiği bu nedenle de *Chamerion*'un ayrı bir cins olarak değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmiştir.

Türkiye Florası'nda seksiyon olarak ele alınan *Chamaerion* cinsi, ülkemizde 4 tür ile *Epilobium* ise 17 tür ile temsil edilmektedir (Chamberlain ve Raven, 1972). Türkiye Florası yayınlandıktan sonra ülkemiz *Epilobium* ve *Chamerion* taksonlarını konu alan çok az taksonomik çalışma yapılmıştır (Güven vd. 2015; Okur vd., 2015, 2016; Makbul vd., 2016). Ancak Tzvelev (2014) ülkemizden toplandığı rapor edilen ve Leningrad (LE) herbaryumunda korunan bazı örnekler üzerinde değerlendirmelerde bulunmuştur. Bu kapsamda *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. var. *karsianum* Tzvelev ve *Chamaenerion bordzilovskyi* Tzvelev ülkemiz *Chamerion* taksonlarına yeni taksonlar eklenmiştir. Son olarak Makbul vd. (2016), daha önceki çalışmalarda *Epilobium*

anatolicum Hausskn. subsp. *prionophyllum* (Hausskn.) Raven olarak belirtilen taksonunun sahip olduğu bitkisel özellikler değerlendirildiğinde tür düzeyinde ayrı bir takson olarak ele alınması gerektiğini rapor etmişlerdir. Bu yeni taksonlar ve düzenlemeler değerlendirildiğinde ülkemizde yayılış gösteren *Epilobium* takson sayısı 22, *Chamerion* takson sayısı ise 5 olarak tespit edilmiştir.

Ülkemizde temsil edilen *Epilobium* cinsi mensuplarının kozmopolit taksonlar olduğu ve endemik taksonun ülkemizde yayılış göstermediği bilinmektedir (Chamberlain ve Raven, 1972). *Epilobium* cinsine ait taksonlar yaşam alanı olarak genellikle nemli alanları tercih etmekle birlikte sulak alanlarda, dere kenarları, bataklıklar, yol kenarları, su kaynakları civarı ile orman altı serin alanlar ve alpin bölgelerde geniş yayılışa sahiptir. Floristik kayıtlar incelendiğinde *Epilobium* taksonlarının ülkemizde Karadeniz Bölgesi ve özellikle de Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi boyunca yoğun bir yayılışa sahip olduğu görülmektedir (Raven, 1962, 1964; Chamberlain ve Raven, 1972). Ancak cins mensuplarının Doğu Anadolu ile Batı Karadeniz ve Akdeniz Bölgesi'nin Toros Dağları boyunca da yer yer yoğun olmakla birlikte önemli oranda dağılım gösterdikleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte *Epilobium* taksonlarının Trakya Bölgesi'nde daha az olmakla beraber Ege ve İç Anadolu Bölgeleri'nde ise çok daha az popülasyonla temsil edildiği görülmektedir. *Epilobium* cinsine ait bitkiler deniz seviyesinden başlayarak 2400 m yüksekliklere kadar yayılış gösteren geniş ekolojik toleransa sahiptir. *Epilobium* cinsi her tip toprakta yetişebilen, yılda 1 m'ye kadar uzayabilen ve gelişimlerini 3 yıl gibi uzun bir zamanda tamamlayan bitkilerden oluşmaktadır (Burkill, 1997).

Epilobium cinsine ait taksonlar; çoğunlukla otsu, nadiren çalı formatında, tek veya çok yıllık, kazık köklü, gövdeleri basit, dallanmış ya da dallanmamış, gövde yüzeyleri tamamen tüysüz, basit yatık tüylü (strilligose), basit kıvrık tüylü (crisped) bitkilerdir. Yaprak ayası tek parça şeklinde basit, gövde üzerinde yaprakların dizilişi genellikle karşılıklı olup, nadiren dairesel biçimdedir. Yaprak damarlanması ağsı, yaprak kenarları kıvrık ve yapraklar tüysüz, yoğun basit yatık tüylü veya sadece damar yüzeyleri ve kenarları boyunca basit kıvrık tüylüdür. Çiçekler ise yaprakların taban kısımlarından tek tek çıkmaktadır. Görünümleri salkım veya bileşiklidir. Çiçek simetrisi aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks ve korolla 4 parçalı olup taban kısmına kadar bölünmüştür. Taksonlarda görülen petal rengi ise beyaz, mor ve pembe'dir. Andrekeum 8 tane olup

stamenler iki sıra halindedir. Flament taban kısmında tüylü ve antere sırttan bağlıdır. Anterler boyuna yarıkla açılır. Ginekeumun uç kısmı genelde girintili, parçalı ya da tam özelliktedir. Ovaryum 4 odacığa sahiptir. Kapsül tipi meyveler ince silindirik biçimde ve dört köşelidir. Meyve rengi siyah, krem ve kahverengi olup, meyve yüzeyleri yoğun basit yatık tüylü veya basit kıvrık tüylüdür. Ayrıca kapsül tipi meyveler çok sayıda tohum içermektedir. Tohumlar yaklaşık 1-2 mm boyutlarında, gagalı (beaked) ya da gagasız (beakless), yüzeyleri düz veya papillalıdır. Tohumlarda rüzgarla tozlaşmayı sağlayan ve koma olarak adlandırılan bir tüy demeti yer alır. Bitkiler genellikle Mayıs-Haziran döneminde vejetatif gelişim, Haziran-Temmuz aylarında çiçeklenme ve Temmuz-Eylül döneminde ise tohumlaşma dönemlerini tamamlar (Chamberlain ve Raven, 1972).

Epilobium cinsinin sistematikteki yeri (Cronquist, 1968):

Alem	: Plantae
Alt alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt sınıf	: Rosidae
Takım	: Myrtales
Aile	: Onagraceae
Cins	: <i>Epilobium</i>

1.1.2. *Epilobium* (Chamerion dahil) Cinsi Üzerinde Gerçekleştirilen Diğer Çalışmalar

Yapılan literatür araştırmaları *Epilobium* cinsi ve dahil olduğu Onagraceae familyasının önemli bitkisel özelliklere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle bu grup üzerinde embriyolojik, palinolojik, morfolojik, mikromorfolojik, anatomik, sitolojik ve moleküler çalışmaların yapılması gerekliliği ön plana çıkarılmıştır. *Epilobium* cinsi ve dahil olduğu Onagraceae familyası üzerinde en kapsamlı çalışmalar Raven (1988) tarafından gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki zamanlarda ise Hoch vd. (1993)

Onagraceae üyeleri üzerinde önemli taksonomik çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Hoch vd. (1993) yaptıkları çalışmaları ile Onagraceae familyasını 7 tribusa ayırmış, bunlardan altı tanesi tek cinsli olan Epilobieae Endl., Lopezieae Spach., Fuchsiae L., Circaeae Dumort., Hauyeae Raim., Jussiaeae L.tribusları ve bir tanesi ise 9 cinse (*Gongylocarpus* Schlecht & Cham., *Gayophytum* A. Juss., *Xylonagra* Donn Smith & Rose., *Camissonia* Link., *Calylophus* Spach., *Gaura* L., *Oenothera* L., *Stenosiphon* Spach., *Clarkia* Pursh.) sahip Onagraceae tribusudur. Cins üzerinde yapılan farklı araştırmalarda Epilobieae tribusu içerisinde ele alınan *Epilobium* cinsi *Boisduvalia* Spach., *Chamaenerion* Tausch, *Cordylophorum* (Rydb.) Raven, *Crossostigma* (Spach) Raven, *Currania* Munz, *Epilobium* L., *Xerolobium* Raven, *Zauschneria* (Presl) Raven seksiyonlarına ayrılarak incelemiştir ve bu cinsin yaklaşık 200 türe sahip olduğu rapor edilmiştir (Averett vd. 1978; Baum vd., 1994). Raven (1976) bu grupta ele alınan *Epilobium* seksiyonunun sahip olduğu 180 türle en fazla tür içeren seksiyon olduğunu belirtmiştir.

Türkiye'nin bitki çeşitliliği bakımında zengin olması birçok botanikçinin ilgisini çekmiş ve bu sayede flora çalışmaları cazip hale gelmiştir (Davis, 1965; Ekim 1975; Güner ve Yıldız 1983). Davis (1975) yaptığı araştırmasında Türkiye Florası'nı değerlendirmiş ancak yeterli veriler olmadığından dolayı tekrar revize edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Değişik araştırmacılar Türkiye'de yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarından bazılarının floristik bölgelerini tespit etmişlerdir. İncelemeler sonucu 26 taksondan 6 tanesinin Avrupa –Sibirya, 3 tanesinin İran-Turan ve 1 tanesinin ise Akdeniz floristik bölgelerinde dağılım gösterdiğini belirtmişlerdir (Chamberlain ve Raven, 1972).

Kaynak ve Ketenoglu (1986) Diyarbakır ve Urfa illerinde yaptıkları flora araştırmalarında 1000m yükseklikte *E. lanceolatum* Sebast. & Mauri taksonun yayılış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Kuzeydoğu Anadolu Bölgesin'de bitki birlikleri üzerinde gerçekleştirilen araştırmada *E. montanum* L. Querco – Fagea ve Ouerco- Fageta grubunda yer alan türler ile bitki topluluğu oluşturduğu, *E. angustifolium* L. subsp. *angustifolium* alttürünün ise refakatçi gruplarla birlikte yer aldığını tespit etmişlerdir (Eminağaoğlu vd., 2006). Kullman (2010) alpin bölgelerdeki floristik incelemesinde buzul atıklarının olduğu kısımlarda *E. angustifolium* L. taksonun bulunduğunu belirtmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarına dayalı olarak *Epilobium* cinsi ile ilgili çok sayıda morfolojik çalışmanın mevcut olduğu tespit edilmiştir (Raven, 1988; Hoch vd. 1993). Haussknecht (1884) *Epilobium* taksonlarının tohum ve stigma özelliklerini dikkate alarak değerlendirmelerde bulunmuş ve bu karakterlerin taksonomik olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Solomon (1982) Güney Amerika'daki yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarında tespit ettiği ekolojik özellikler ile tüylenme, yaprak ve tohum gibi kısımlara ait morfolojik karakterlerin taksonların sınıflandırılmasında kullanılabilceğini göstermiştir. Solomon (1982) ayrıca *Epilobium* taksonlarının genellikle çok yıllık otlar olduğunu ve nem oranı yüksek yerlerde yaşamayı tercih ettiklerini belirtmiştir. Chen vd. (1992), in'de yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarını polen, tohum ve tüy özelliklerine göre kapsamlı bir şekilde değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar alışmaları sonucu *Chamaenerion* seksiyonunun polen şeklinin monad, zigomorf iek simetrisi ve spiral düzenlenmiş yaprak dizilişi gibi bazı morfolojik özellikler yönünden *Epilobium* seksiyonundan ayrıldığını tespit etmişlerdir. Holub (1972), *Chamaenerion*'u cins seviyesinde ele alarak sekiz tre sahip olduğunu ve bu türlerin kozmopolit bir yayılış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Epilobium cinsi, çok sayıda morfolojik benzerliğe sahip taksonu barındırması ve cins içerisinde var olan yüksek hibritleşme yüzdesi nedeni ile taksonomik olarak zor bir cins olarak kabul edilmektedir (Krajsek vd., 2006). Bu nedenle cinse ait taksonların ayırımında sadece morfolojik karakterlere dayalı bir ayırım yapılmasının çözüm olmadığı bunun yanısıra ayırma katkı sağlayacak farklı çalışmalara da ihtiyaç duyulduğu vurgulanmaktadır. Krajsek vd. (2006) Avrupa merkezli 14 *Epilobium* türünü iek durumu, kaliks ve meyve yüzeylerindeki tüy tipi ve yoğunluğunda görülen farklılara göre değerlendirerek, bu özelliklerin morfolojik olarak benzer olan türlerin ayırımında önemli katkılar sağladığını göstermişlerdir. Krajsek vd. (2011) araştırmalarında *E. hirsutum* taksonun gövde, yaprak, iek durumu ve meyve kısımlarında yoğun, kısa ya da körelmiş olan tek hücreli salgı tüylerinin mevcut olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Makbul vd. (2015) Türkiye'de yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarının vejetatif ve generatif organlar üzerindeki tüy dağılımlarını gözlemlemişlerdir. Yapılan incelemede gövde, yaprak, kaliks, stilus ve meyve yüzeylerindeki tüy tipi, yoğunluğu ve dağılımlarının incelenen taksonlar arasında değiştiği ortaya konulmuştur (Makbul vd.,

2015). Benzer sonuçlar *Chamaenerion* seksiyonuna ait 4 taksonun tüy özelliklerini elektron mikroskobu ile inceleyen Kundakçı vd. (2016) tarafından da rapor edilmiştir.

Wagner vd. (2007) morfolojik karakterlere dayalı olarak yapmış oldukları araştırmalarında *Chamaenerion*'un (Rafinesque) Rafinesqueex Holub stamen yapısı, çiçek simetrisi, yaprak şekli ve dizilişi bakımından *Epilobium*'dan farklı morfolojik özelliklere sahip olduğunu ve bundan dolayı ayrı bir cins olarak değerlendirilmesi gerektiğini rapor etmişlerdir. Lorimer (2007), Yeni Zelanda'da yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarını morfolojik özelliklerine göre incelemiş ve çiçek durumu, gövde rengi, tüylülük, yaprak şekli, dizilişi, meyve, tohum ve koma yapılarında farklar olduğunu tespit etmiştir. Bu karakterlerin aynı zamanda taksonomik bir kriter olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

E. anatolicum Hausskn ve *E. prionophyllum* Hausskn taksonları birçok çalışmada alt tür olarak ele alınmaktadır (Raven,1964; Chamberlain ve Raven, 1972; Wagner, 2007). Ancak bu iki taksonu Rus Florası (Shtember, 1949)'nda olduğu gibi müstakil bir tür olarak ele alan çalışmalar da mevcuttur. Makbul vd. (2016) *E. prionophyllum* ile *E. anatolicum* taksonlarının farklı morfolojik, mikromorfolojik ve anatomik özelliklere sahip olduğunu bu nedenle de ayrı birer tür olarak ele alınması gerektiğini vurgulamışlardır. *E. prionophyllum*'un koma renginin kahverengi, tohumun gagalı olması ve papillanın yokluğu gibi karakterlerin yanı sıra bazı anatomik özellikleri ile *E. anatolicum*'dan ayrıldığı tespit edilmiştir.

Familya üyesi çok sayıda cinsin polen morfolojisi birçok bilim adamı tarafından ele alınmış bu grup bitkilerin sahip oldukları farklı polen özellikleri ile dikkat çeken bir özelliğe sahip oldukları belirtilmiştir (Fischer, 1890; Beer, 1905). Punt vd. (2003) Kuzeybatı Avrupa *Epilobium* polenlerinde polen büyüklüğü, apertür ve ekzin kalınlığı gibi palinolojik özelliklere göre 7 farklı polen tipi tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada *Epilobium* taksonlarının *Epilobium angustifolium*-tip, *Epilobium latifolium*-tip ve *Epilobium tetragonum*-tip olmak üzere üç farklı tip polene sahip olduğunu tespit edilmiştir. Bu üç tip polenin yapısı monad ve tetrat, tektum özelliği çukurlu-köşeli, ince granüllü, çubuksu, polen şekilleri oblat, suboblat (yumurtamsı), spheroidal (küremsi), yüzey süslemeleri granüllü, çizgili (striate), düzensiz çizgili, simetrilerinin ise radyal

olduğu belirtilmiştir (Punt vd., 2003). *Epilobium luteum* Pursh. taksonu polenlerinin tetrahedral yapıda düzenlenmiş tetradlardan meydana geldiği ve bu şekildeki polenlerin üç tane delik şeklinde açıklığa (apertür) sahip olduğu bilinmektedir (Fischer,1890; Beer 1905; Patel vd., 1984; Skvarla vd., 2008).

Perveen ve Qaiser (2013) Onagraceae polenlerindeki polenlerindeki tektum yapısının önemli bir değişken olduğunu tespit etmişlerdir. *Epilobium* cinsine taksonomik yakınlığı ile tanınan iki *Oenothera* türünde (*Oenothera affinis* Combess. ve *Oenothera glazioviana* Michel) çukurlu-düzensiz kısa çizgili tektum görülürken, *Epilobium leiophyllum* Haussn. taksonunun granüllü ekzin yapısına sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *E. angustifolium* L, *E. cylindricum* D. Don., *E. hirsutum*, *E. latifolium* L., *E. parviflorum* Schreber ve *E. palustre* taksonlarının ise ince granüllü (scabrate) tektuma sahip oldukları tespit edilmiştir. Rowley ve Claugher (1996), *E. angustifolium* taksonunun ekzin yapısını Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM)'da incelemiştir. Çalışma sonucu olgun polen tanelerinde ekzin genişliğinin 40 nm ve çukur, çapının ise 100 nm ve çubuk şeklinde görünüme sahip olduğunu belirtilerek, ekzinin distal kısımda değişik ornamentasyona sahip olduğu tespit edilmiştir.

Makbul vd. (2008) çalışmasında *E. algidum* Bieb., *E. hirsutum*, *E. montanum* ve *E. palustre* taksonlarında çubuksu tektum, *E. confusum* Hausskn.ve *E. ponticum* Hausskn. taksonlarının ise çizgili tektum yapısına sahip olduklarını tespit etmişler ve polen şekli ve yüzey ornamentasyonu gibi palinolojik karakterlerin *Epilobium* taksonlarının ayırımında etkili olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Okur vd. (2016) cins üzerinde yaptıkları palinolojik çalışmalarında polenlerin monad veya tetrahedral, trizonoparat, subisopolar, bilateral simetrik, yüzey süslemesinin çubuksu, çizgili veya düzensiz çizgili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada en önemli palinolojik farkın polen yayılış şekli olduğu görülmüştür. *Epilobium* seksiyonundaki polenlerin tetrahedral yayılış, *Chamaenerion* seksiyonundaki polenlerin ise anterden monad halde yayıldıklarını tespit etmişler ve polen şekli, yayılışı ve ornamentasyonu gibi karakterlerin *Epilobium* taksonlarının ayırımında etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bitki sistematigi çalışmalarında son yıllarda tohum morfolojisi karakterinden yoğun şekilde yararlanılmaktadır. Bitkinin gövde ve yaprak gibi vejetatif organları ile

daha çok meyve ve tohum gibi generatif karakterlere ait mikro yapılar taksonların ayırımına önemli katkılar sağlamaktadır. *Epilobium* taksonları üzerinde yapılan çalışmalar, tohum morfolojisinin şekil ve boyut bakımından önemli değişiklikler gösterdiğini ve bu farklılıkların dış morfoloji ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Hausknecht, 1884; Samuelsson, 1923, 1930; Munz, 1965; Akbari ve Azizian, 2006). Okur vd. (2015), *Epilobium* cinsinde yer alan ve morfolojik benzer olan *E. algidum* ile *E. ponticum*, *E. stevenii* Boiss. ile *E. dodonaei* Vill., *E. lanceolatum* ile *E. montanum* taksonlarının tohum şekli ve yüzey ornemasyonu bakımından aralarında farklar olduğunu rapor etmişlerdir. Morfolojik olarak ayrılabilen *E. lanceolatum* ve *E. minutiflorum* taksonlarının tohum yüzeylerinin birbirine benzer olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen verilere göre periklinal çeper yüzeyi ve tohum yaka özelliği gibi morfolojik karakterlerin taksonların ayırımında önemli olduğunu tespit etmişlerdir.

Akbari ve Azizian (2006), tarafından *Epilobium* taksonları tohum yüzeyleri ve çeper yapısına göre 5 tipe ayrılmıştır. Bunlardan çıkıntılı yüzey ve dikdörtgenimsi çeperlere sahip *Chamaenerion* seksiyonunda yer alan *E. dodonaei* ve *E. stevenii* taksonlarının tip-1'de olduğu belirtilmiştir. Poligonal, spiral çizgili, düzensiz, konveks, retikulat yüzeyler ile çöküntü şeklinde periklinal çeperlere sahip olan *Epilobium* seksiyonundaki bazı taksonların ise tip-2-3-4-5 şeklinde sınıflandırılarak karakterize etmişlerdir. Benzer şekilde Saxen (2011), yapmış olduğu çalışmada *Chamaenerion* ve *Epilobium* seksiyonlarının tohum yüzeyleri bakımından farklar içerdiğini belirtmiştir. Seavey vd. (1977), *Epilobium* cinsine ait seksiyonları tohum yüzey özellikleri ve şekillerine göre inceledikleri çalışmada temelde 7 gruba ayırmışlardır. Buna göre; Grup 1'de geniş, ovat veya daralmış şekilli tohumlara sahip *Cordylophorum*, *Xerolobium*, *Zauschneria* seksiyonları ve *Epilobium* seksiyonunda yer alan *E. rigidum* Hausskn. taksonu; Grup 2'de papillalı tohumlara sahip *Epilobium* seksiyonundaki taksonların çoğu ile *Chamaenerion* seksiyonun *Rosmanifolium* alt seksiyonundaki taksonlar; Grup 3'de oluklu yüzeye sahip *E. anagallidifolium* Lam taksonu; Grup 4'de obovat ve tabla şeklinde (patelliform) tohumlara sahip olan *E. gunnianum* Hausskn., *E. curtisiae* Raven, *E. willisii* Raven & Engelhorn ve *E. angustum* (Cheesem.) Raven & Engelhorn taksonları; Grup 5'de tohum yüzeyi düzensiz ağimsı olan *Chamaenerion* seksiyonun *Leiostylae* (Steinberg) P. H. Raven altseksiyonundaki taksonlar; Grup 6'da köprülü tohum yüzeyine sahip *E. ciliatum* Raf., *E. exaltatum* Drew., *E. oreganum* Greene, *E. watsonii* Barbey taksonları ve Grup 7'de ince papillalı tohum

yüzeyine sahip *Crossostigma* (Spach) P. H. Raven seksiyonunda yer alan taksonlar yer almaktadır.

Epilobium cinsine taksonomik katkılar sağlayacak yönde gerçekleştirilen çok fazla anatomik çalışmaya rastlanılmamıştır. Metcalfe ve Chalk (1950) Onagraceae familyasının anatomik özelliklerini ele aldığı “Anatomy of the Dicotyledons and Its Revision” adlı çalışmasında kısmen *Epilobium* taksonlarını da içeren bazı anatomik özelliklere değinmiştir. Carlquist (1977) *Epilobium colchicum* Albov. subsp. *colchicum* türünün anatomik yapısıyla ilgili ayrıntılı bilgiler belirtmiştir. Keating (1982) yaprak anatomisini incelediği çalışmasında *Epilobium* taksonlarında yaprakların dorsiventral veya izobilateral olduğu ve karakteristik olarak rafit kristalleri içerdiğini vurgulamıştır. Makbul vd. (2008) Kuzey Anadolu bölgesinde yayılış gösteren bazı *Epilobium* taksonlarının anatomik özelliklerini incelemişlerdir. Bu çalışmada floem ve ksilem özellikleri ile yaprak orta damarı, yaprak yüzeyleri ve idioblastların varlığı ve dağılımı gibi karakterlerin taksonların ayırımında önemli olduğu ortaya konulmuştur. Okur vd. (2016) *Epilobium* cinsine ait bazı taksonlarda meyve anatomisinin genellikle benzer olduğunu ancak perikarp yapısının bazı taksonlarda farklılık gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Mertayak (2016) çalışmasında *Chamaenerion* ve *Epilobium* seksiyonlarına ait taksonlar arasında önemli anatomik farklar olduğunu belirtmiştir.

Geçmişte *Epilobium* taksonlarının da dahil olduğu bazı sitolojik çalışmalar tespit edilmiştir (Maheshwari, 1950; Kurabayashi vd., 1962). Elde edilen bilgiler *Epilobium* taksonlarının genellikle diploit ($2n=36$) kromozom sayısına sahip olduğu işaret etmektedir (Raven ve Moore, 1964; Kumar ve Singhal, 2011). Raven ve Moore (1964) Britanya’da yayılış gösteren *E. lanceolatum* Seb.& Mauri. ve *E. tetragonum* subsp. *lamyii* (F. W. Schultz) H. Lev. taksonlarının $2n=36$ kromozom sayısına sahip olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda deneysel ortamda gerçekleştirilen hibridizasyon çalışmalarında türlerin verimlilik ve kendi kendine tozlaşma gibi özelliklerinde bir düşüş olurken herhangi bir mitotik düzensizliğin görülmediği rapor edilmiştir (Raven ve Moore, 1964). Seavey ve Raven (1977), *Epilobium* cinsinin Güney Amerika’da yayılış gösteren türlerin AA kromozom diziliminde ve predominant, Kuzey Amerika da yetişen türlerin ise hem AA hem de BB kromozom, Avustralya da yayılış gösterenlerin ise sadece AA kromozom dizilimi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca Güney Amerika’da yetişen

Epilobium türleri arasında yapılan melezleme çalışmaları ile çiçeklenme durumunun düzensiz, bitki boyunun kısa, ve yaşam süresinin uzun olduğu yönünde farklar tespit edilmiştir. Epilobieae tribusu üzerinde gerçekleştirilen karyolojik çalışmalarda familya üyesi diğer tribuslardan belirgin farklar gösterdiği tespit edilerek, tribusa ait cinslerin kromozom şeklinin nokta ve heteropiknotik (farklı kromozomlarda veya aynı kromozomun farklı bölgelerinde görülen yoğunluk farklılığı), kromozom sayısının $x=9, 10, 12, 13, 15, 16, 18$ arasında değiştiği ortaya konmuştur (Raven, 1976; Keating, 1982; Baum vd., 1994). Raven (1976) *Epilobium*'un plesiomorfik (değişmeden gelmiş atasal karakter), *Chamaenerion*'un ise apomorfik (türemiş karakter) özellik gösterdiğini belirtmiştir.

Ghaffari ve Kelich (2006), karyolojik incelemeleri sonucu *E. confusum* Hausskn. taksonunun kromozom sayısının $n=10$ olduğunu ve mitozun metafaz I safhasında bivalentlerin genellikle çubuk şeklinde görüldüğünü rapor etmişlerdir. *Chamaenerion angustifolium* taksonunun araştırıldığı sitolojik çalışmada diploid, triploid ve tetraploid özelliğin görüldüğü, poliploidinin mevcut olduğu ve sitotiplerinde farklılıklar olduğu belirtilmiştir (Husband ve Schemske, 1998). Benzer şekilde başka çalışmada diploid türlerin $2n=2x=36$, tetraploidlerin ise $2n=4x=72$ karyotip düzenine sahip ve diploid türlerin ploidi seviyesinin $2x$, tetraploidlerin ploidi seviyesinin $4x$ olduğu tespit edilmiştir (Mosquin, 1966, 1967; Mosquin ve Small, 1971). Stebbins (1971), tarafından *Epilobium* cinsinin poliploid orjinli olduğunu belirtmiştir. Elkington (1984), karyolojik çalışmasında Kuzey ve Güney Amerika'da yayılış gösteren *E. anagallidifolium* Lam.'un CC, *E. alsineifolium* Wirtg. ex Hausskn. taksonunun ise AA karyotip düzenlemesine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Wagner vd. (2007) sitolojik incelemelerinde *Epilobium* cinsinin kromozom sayısının $x=18$, haploid kromozom sayısının ise taksonlar arasında $n=9, 10, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 30$ şeklinde değişebileceğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar *Chamerion* üyelerinin ise diploid, triploid ve hexaploid kromozom sayısı içediğini belirtmişlerdir. Holub (1972), *Chamaenerion* cinsinin temel kromozom sayısının $x=18$ olduğunu ancak cinse ait taksonlarda poliploidinin görüldüğünü tespit etmiştir. Raven (1988), *Chamaenerion* ve *Epilobium* seksiyonuna ait taksonların aneplodik soydan (atadan) geldiklerini ve $n=6$ kromozoma sahip olduğunu göstermiştir.

Barakat vd., (1997) *E. hirsutum* taksonu üzerinde HPLC analizine dayalı yaptıkları kimyasal çalışmalarında polifenolik içeriğin yüksek oranda metil, gallic asid metil ester, ellagitannin, flavonoid gibi bileşiklerden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar incelemelerinde bileşiklerin kimyasal içeriğinin parmakizi ve kimlik tespitinde kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Toth vd. (2009) cinse ait bazı türlerin polifenolik bileşik ve antioksidan içeriğini basit spektrofotometrik metot ile analize tabi tutmuşlar ve kimyasal içeriğin oenothain B, flavonoid ve taninden oluştuğunu, *E. parviflorum* türünün diğer türlere oranla daha yüksek miktarda antioksidan içerdiğini ve *E. angustifolium*'un ise diğer taksonlardan farklı olarak trolox ve askorbik asit olmak üzere iki ayrı antioksidan ihtiva ettiğini belirtmişlerdir.

Ramesh vd. (2012), *E. angustifolium*'un bütün kısımlarını kullanarak kimyasal özütün kemotaksi ve NF kapa-b aktivasyonu (transkripsiyon faktörü) üzerine etkisini araştırmışlardır. İncelemelerinde bitkinin fenolik içeriğinin bağışıklık sistemi rahatsızlıklarında direnci artırdığını ve kullanımının faydalı olacağını belirtmişlerdir. *E. angustifolium* in vitro şartlarda kromatografik ve HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. İnceleme sonucu gallic asit, ellagik asit, L- askorbik asit gibi bileşikler içerdiği ve bu kimyasal içeriğin demir aktivitesini azaltarak fosfolipit yapısını degrades ettiği tespit edilmiştir (Shikov vd., 2006).

Eghmazi vd. (2015), İran'da yayılış gösteren *E. hirsutum* taksonunun yağ özütünün antibakteriyel etkisini hidrodistilasyon yöntemi ile araştırmışlardır. İncelemeleri sonucu *E. hirsutum*'un yağ özütünün *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* ve *Escherichia coli* bakterilerinin gelişimini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Sheikh vd. (2016) *Epilobium hirsutum* taksonuna ait bitkileri morfolojik ve kimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Elde edilen bulgular bitkinin kimyasal bileşim yönünden zengin olduğunu ve tıbbi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Yapılan literatür taramaları, *Epilobium* taksonlarını konu alan bazı fizyolojik çalışmaların olduğunu göstermiştir.

Shamsi ve Whitehead (1974), *Epilobium hirsutum* taksonunun daha çok sulak ve bataklık alanlar ile 1000-2750 arasında değişen farklı yüksekliklerde yayılış gösterdiğini, düşük sıcaklık koşullarına adapte olurken aşırı değişen çevresel şartlar (nem, besin) karşısında ekolojik toleransının olmadığını belirtmişlerdir. Bu bitkinin 10C⁰ sıcaklıkta maksimum çimlenme gösterdiği ve Kuzey Avrupa, Norveç, Mısır, Sudan, Avustralya gibi ülkelerde yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Abeş (2007), *Epilobium hirsutum* ile ilgili fizyolojik incelemesinde ise türün ortalama gövde uzunluğunun 193,25 cm, tohumlarının ışığa karşı aşırı hassas, gelişim sürecinde ise iklimsel faktörlerin (yağış ve sıcaklık miktarının) eşit rol oynadığını belirtmiştir. Türün çimlenme özelliğinin değişen ortam şartlarında farklılık gösterdiği bildirilerek yaklaşık olarak 30C⁰ civarında ve ışıklı ortamda en iyi çimlenmenin olduğu, yüksek sıcaklık ile karanlıkta ise düşük oranda meydana geldiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde *Epilobium angustifolium* taksonu Mayıs ayından başlamak üzere gelişmeye başlar, Temmuz-Ağustos dönemlerinde maksimum büyümesine ulaşır ve Ağustos ayından sonra da tohum oluşumu ile birlikte vejetasyonunu tamamlar (Broderick, 1980; Broderick, 1990).

Literatür verilerine göre cins üzerinde gerçekleştirilmiş biyoteknolojik çalışmaların mevcut olduğu tespit edilmiştir. Christov (1999), CMS (Sitoplazmik erkek kısırlığı) görülen bitkilerin *E. roseum* (Schreb.) Schreb. ve *E. montanum* taksonları ile hibridizasyon işlemine tabi tutulması sonucu üretkenliğin attığını tespit etmiştir. Ayrıca aynı çalışmada şekerpancarı, havuç ve soğanın *Epilobium* taksonları ile çaprazlanması sonucu fiziksel ve kimyasal mutasyonlara karşı daha dayanıklı oldukları belirtilmiştir. Topraktaki toksik elementlerin içeriğinin bilinmesi gerek insan sağlığı gerekse yaşanabilir bir çevre için oldukça önemlidir. Bakır (Cu) bitkiler için son derece toksik olup büyümesini engellemektedir. İran'da yayılış gösteren *E. hirsutum*'un sürgün ve kök kısımlarında Cu miktarı analiz edilmiştir. İnceleme sonucu *E. hirsutum*'un yapısında yüksek oranda bakırı biriktirdiği, bu sayede toprak ve sudan arıtılmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Ebrahimnezhad, 2014).

Mund vd. (2016), *E. hirsutum* ve *E. montanum* taksonlarının LNCaP (androjen duyarlı prostat kanser hücresi) kültürleri üzerine etkisini biyoteknolojik uygulamalar ile araştırmışlardır. İnceleme sonucu prostat hücrelerinin büyümesinin engellendiğini tespit etmişlerdir. Kujawski vd. (2009), tarafından *E. angustifolium* taksonundan çıkartılan

ekstraktın fare karaciğeri üzerindeki P450 aktivitesini (polisiklik aromatik hidrokarbonları ve aril aminleri) değerlendirmişler. Yapılan ön çalışmalar sonucu bitkiden elde edile özütün P450 enziminin aktivitesini ve fare karaciğeri üzerindeki kanser (onkogen) hücre gelişimini inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır.

E. hirsutum'un safra asit metabolizmasında rol oynayan cyp enzimlerinin protein ve mRNA ekspresyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir (Çulcu, 2015). Araştırma in vivo (organizmanın tamamı üzerinde gerçekleştirilen araştırma) koşullarda gerçekleştirilmiştir. Safra asidi tayini CYPs, protein ve mRNA içeriği western blotting (protein tayini) ve qRT-PCR (florosan boyalarla gerçek zamanlı olarak DNA'nın belirlenmesi ve miktarının gösterilmesi) uygulamaları ile analiz edilmiştir. Tüm bu değerlendirmeler ışığında bitki içeriğinin safra asidi üzerinde düzenleyici etkileri olduğunu, mRNA ve protein sentezini katalizyen CYPs aktivitesini değiştirdiğini belirlemişlerdir (Çulcu, 2015). Bütün bu gelişmeler biyoteknoloji uygulamalarında bitkilerin kullanımının önemini artırmaktadır.

Son zamanlarda *Epilobium* cinsinin de dahil olduğu Onagraceae familyası mensuplarındaki akrabalık ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında bazı çalışmalar yapılmıştır (Martin ve Dowd, 1986; Crisci vd., 1990; Systma vd., 1991b; Conti vd., 1993; Bult ve Zimmer, 1993; Systma ve Smith, 1992; Baum vd., 1994; Levin vd., 2003, 2004; Hoggard vd., 2004; Ford vd., 2007; Krakos vd., 2014).

Onagraceae familyası ile ilgili ilk moleküler çalışmalar kısa protein dizilerinin incelenmesi ile başlamıştır (Martin ve Dowd, 1986). Bazı *Epilobium* ve *Chamaenerion* mensuplarının da dahil olduğu çok sayıda Onagraceae mensubu arasındaki filogenetik ilişkiler cpDNA (*rbcS*, *rbcL*, *ndhF*, *trnL-trnF*) ve nrDNA (ITS) gen bölgeleri kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sonucu Epilobieae tribusunda yer alan *Epilobium* ve *Chamerion* cinslerine ait taksonlar ile Onagreae tribusunda yer alan *Oenothera*, *Clarkia* ve *Gongylocarpus* cinslerine mensup taksonların birbirlerine yakın bağlandığı ve monofiletik gruplar oluşturdukları tespit edilmiştir. Aynı çalışmada tercih edilen *rbcL* gen bölgesinin 3. kodonunda meydana gelen değişimin evrimsel açıdan ilişkileri açıklamak için yararlı olabileceğini belirtmişlerdir (Conti vd. 1993; Levin vd., 2003, 2004). Benzer şekilde Bult ve Zimmer (1993), 18S ve 26S rRNA dizilerine göre yaptıkları moleküler

çalışmalarında *Oenothera* ve *Epilobium* cinslerinin aynı kolda bağlanarak monofiletik bir grup oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Ford vd. (2007) cp DNA (*PgiC*) gen bölgesini Onagraceae familyası tribuslarına ait cinsler arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek için kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlar *Epilobium*, *Oenothera* ve *Clarkia* cinslerinin birbirlerine yakın bağlandıklarını ve bu cinslere ait taksonların monofiletik bir grup oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada *Epilobium* cinsine ait *E. canum* P. H. (Raven) ve *E. brachycarpum* C. Presl taksonlarının ortak bir atadan gelen tetraploid özellikte taksonlar olduğu vurgulanmıştır.

Baum ve Systma (1994), 8 seksiyona ait toplam 22 *Epilobium* taksonunun nrDNA (ITS1+5.8S+ITS2) gen bölgelerini karşılaştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre *Chamaenerion* seksiyonunda yer alan *E. dodonaei* ViII., *E. angustifolium* L. ve *E. latifolium* L. türlerinin yüksek seç-bağla (%100) değeri ile diğer yedi seksiyondan ayrı bir dalda yerleşmiştir. Aynı çalışmada *Epilobium* cinsinde yer alan *Xerolobium*, *Crossostigma*, *Cordylophorum*, *Currania*, *Boisduvalia*, *Zauschneria* seksiyonlarının kserofitik özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir. Kserofitik grupta bulunan *Boisduvalia* ve *Currania* taksonlarının tek yıllık bitki, diğer 4 seksiyona ait taksonların ise çok yıllık bitkiler olduğu tespit edilmiştir. Baum ve Systma,(1994) ayrıca incelenen bu seksiyonlara ait taksonların monofiletik bir grup oluşturduğunu da iddia etmişlerdir.

Lorimer (2007), Yeni Zelanda'da yayılış gösteren 41 *Epilobium* taksonunu nrDNA (ITS), cpDNA (*trnL-F*) ve nrDNA üzerinde yer alan sitozolik gliseraldehit 3 fosfotaz dehidrogenaz (GPDH) gen bölgelerini baz sırası yönünden karşılaştırmıştır. Bu çalışmada monofiletik, polifiletik veya parafiletik gruplar olduğu tespit edilmiştir. Parafiletik grup oluşturan taksonların özellikle Avustralya kökenli bitkiler olduğu ve bu taksonlarda politominin yaygın olduğu görülmüştür.

Schmitz (1988), *Epilobium* cinsine ait dört taksonun mitokondrial DNA'larını yapısal özellikleri ve boyutu yönünden karşılaştırmıştır. Bu çalışmada *Epilobium* cinsi taksonlarında mitokondrial DNA'nın 320 kb uzunlukta olduğu, *E. montanum*, *E. watsonii*, *E. lanceolatum* taksonlarının mtDNA'larının 0.3- 1,2 kb, dairesel yapıda ve

oldukça dayanıklı, *E. hirsutum*'un ise DNA boyutunun 2.7 kb, halkasal ve yapısının oldukça hassas olduğu ortaya konmuştur.

Epilobium taksonları ile yapılan melezleme çalışmaları sitoplazma faktörlerinin cinsin fenotipik karakteri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Ancak melezleme çalışmalarında fenotipik belirteçlerin yetersizliği sebebiyle mitokondriyal kalıtım hakkında sınırlı bilgi elde edilmiştir (Michaelis, 1950, 1954, 1966; Schmitz, 1988). Lorimer (2007) yapmış olduğu çalışmasında Yeni Zelanda'daki *Epilobium* taksonları arasında yüksek oranda hibridizasyon görüldüğünü tespit etmiştir.

1.1.3. *Epilobium* (*Chamerion* dahil) Cinsinin Etnobotaniksel Özellikleri

Epilobium cinsi Anadolu'da genellikle "yakı otu" olarak bilinmektedir. Aynı zamanda cinsin bazı mensupları halk arasında yakıotu, defne, çayırgülü, hasanhüseyin çiçeği gibi isimlerle tanınmaktadır (Güner, 2012; Sayık, 2007). Ülkemizde ve dünyada cins mensupları ayrıca halk tıbbında çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Cins ait taksonların büyük oranda anti-mikrobiyal ve anti-kanserojen etkiye sahip oldukları, bu nedenle de kanser ve bazı hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (Battinelli vd., 2001; Melchior, 1972). Özellikle *E. hirsutum* L., *E. palustre* L., *E. tetragonum* L., *E. rosmarinifolium* Pursh türlerinin maya, mantar, gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde önemli oranda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Battinelli vd., 2000, 2001). Benzer şekilde *E. hirsutum*, *E. angustifolium*, *E. parviflorum* türlerinin zengin bir flavonoid içeriğine sahip olduğu ve türlerin antibakteriyal, fitoterapötik etkileri sayesinde immun sistem, prostat kanseri ve böbrek hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Roman vd., 2010).

Lesuisse vd. (1996) *E. parviflorum* türünde tespit ettiği polifenolik içeriğin oenothain B, makrosiklik tanen olduğunu ve bu özelliği ile prostat rahatsızlığının tedavi edilmesinde kullanıldığını belirtmiştir. Onar vd. (2012) *Epilobium angustifolium* yaprak özütlerindeki antioksidan içeriğinin elastaz, tirozinaz, lipaksinaz enzimlerinin çalışma aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada bahsedilen elastaz dokulardaki protein yapısını bozan, lipaksinaz demir içeriği fazla olan ve yağların oksitlenmesini

sağlayan, tirozinaz enzimi ise kimyasal tepkimelerde enzimatik reaksiyon aktivitesini azaltan özellikteki enzimlerdir. Ayrıca bu üç enzim çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Araştırmacılar incelemeleri sonucu *E. angustifolium*'un antioksidan içeriğinin bu üç enzimin çalışmasını inhibe ettiğini belirtmiştir. Onar vd. (2012) ayrıca *Epilobium angustifolium* örneklerinin indirim, prostat kanseri, deri hastalıkları ve parkinson gibi hastalıkların tedavisi ile ilaç ve kozmetik sanayisinde kullanıldığını, aynı zamanda gıda olarak da tüketildiğini belirtmiştir. Aynı çalışmada *Epilobium* cinsi mensuplarının ağrı kesici, antimikrobiyal, anti-tümör ve antiandrojenik (yatıştırıcı) etkilerinin de olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde Vitalone vd. (2003a; 2003b), *Epilobium* taksonları üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında kimyasal özütün bakteri gelişimini inhibe ettiğini ve prostat büyümesini engellediğini tespit etmişlerdir.

Hiermann vd. (1986) yaptıkları çalışmalarında *Epilobium* cinsinin mide-bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullandıklarını tespit etmişlerdir. Baytop (1999) *Epilobium angustifolium* örneklerinin yaprak ve köklerinden elde edilen karışımın kabızlık tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir. Karakurt vd. (2016), *Epilobium hirsutum* türüne ait taksonların antikanserojen, antioksidan ve antiinflamatory (iltihap sökücü) etkiye sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Stajner vd. (2006, 2007) araştırmalarında cinsin üyelerinin Rusya'da mide ülseri, gastrit ve uyku bozukluğu gibi durumlarda tatlı ve hoş kokularından dolayı çay olarak tüketildiğini, aynı zamanda kanama ve iltihap azaltıcı etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca yaprak ve sürgün uçlarının salata yapılarak ya da sebze olarak pişirilerek tüketilmektedir (Stajner vd., 2006, 2007). Sayık (2007), yapmış olduğu çalışmasında *Epilobium* türlerinin halk tıbbında yaygın olarak prostat ve sindirim rahatsızlıklarının tedavisinde kullandıklarını ve sahip oldukları anti-phlogistik, anti-septik etki nedeni ile yaraların iyileştirilmesinde faydalı olduklarını ifade etmiştir. Araştırmacı incelemesinde cinsin üyelerinin Anadolu'nun çeşitli yerlerinde halk tarafından salata yapılarak, ya da taze ve kurutulularak tüketildiğini tespit etmiştir (Sayık, 2007).

Yakı otları flavorglikozidler, kaempferol, quercetin, myricetin, sitosterolun, sitosterol glikozid türevi sekonder bileşikler içermektedir. Özellikle Beta-sitosterol türevlerinin tek başına kullanımlarının yanı sıra diğer bitkisel sterollerle beraber çay

şeklinde tüketildiğinde prostat büyümesini engelledikleri belirtilmiştir (Berges vd., 1995; Wilt vd., 1999).

1.2. Bitki Sistematikinde Moleküler Verilerin Önemi

Sistematik, canlıların ortak özelliklerine, aralarındaki farklara ve akrabalık ilişkilerine göre sınıflandırılmasıdır (Simpson, 1961; Berlin vd., 2013). Sistematik geçmiş yıllardan itibaren biyoloji biliminin önemli uğraşlarından birisi olmuştur (Sneath ve Sokal, 1973; Berlin vd., 2013). Klasik taksonomi çalışmalarında sınıflandırma için yalnızca birkaç morfolojik karakterden yararlanılmıştır. Bilim insanları, ilerleyen zamanlarda kapsamlı ve daha geçerli sonuçlar elde etmek için sınıflandırmada daha fazla morfolojik özelliği dikkate almışlardır (Sneath ve Sokal, 1973; Savile 1979; Bown, 1995; Berlin vd., 2013).

Sınıflandırmada bir taksona ait bireyler arasında görülen benzerlik oranının yüksek olması beklenir. Ancak bu taksonlar arasında ayırım yapılırken bazı problemler ile karşılaşmaktadır. Bu duruma çözüm bulmak ve morfolojik özelliklere yardımcı olmak amacıyla değişik veri kaynaklarından yararlanılmaktadır. Faydalanılan bu veri kaynakları arasında palinolojik, mikromorfolojik, karyolojik, anatomik, farmosötik, kimyasal, fizyolojik ve moleküler şeklinde sayılabilir. Mevcut çalışmada moleküler veriler kullanılmıştır (Taşkın, 2011).

Türler arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında moleküler yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır (Baldwin vd., 1995; Hershkovitz vd., 1996, 1999; Dubouzet ve Shinoda, 1999; Ogundipe ve Chase, 2008). Moleküler çalışmaların en kritik dönüm noktalarından birisi Watson ve Crick (1953) tarafından DNA'nın çift sarmal yapısını açıklaması olmuştur. Evrimsel farklılığın ilk görüldüğü molekül olan DNA üzerinde yapılan araştırmalar daha güvenilir ve hızlı sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Taylor vd., 2000; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). 1960'lı yılların başında yakın taksonlar arasındaki ilişkileri açıklamak için kısa protein dizilerinin kullanılmasıyla moleküler sistematik çalışmalarında ilk adımı atılmış oldu (Hillis vd., 1996). Ancak protein dizileri gen düzeyinde bilgi vermekte yeterli değildi. Bu durum moleküler sistematik çalışmaların geliştirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir (Coyne, 1982). 1980'li yıllara geldiği

zaman Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yönteminin keşfedilmesiyle nükleotit ile ilgili problemler ortadan kalkmış ve moleküler sistematik çalışmaları tam anlamıyla başlamıştır. Benzer şekilde 1985 yılında Karry Mullis PZR uygulamasını daha da geliştirmiştir. Bu teknik gene özgü DNA baz dizilerinin çoğaltılması ve elektroforez tekniği ile görüntülenmesine imkan tanımıştır. PZR uygulamaları sistematik çalışmalarda morfolojik karakterlerin yetersiz kaldığı durumlarda familya, cins ve taksonlar arasında değerlendirmeler yapılmasına olanak tanımıştır (Özad, 2010; Çetiner, 2013).

DNA dizin çalışması bir taksonun DNA'sının belirli bir bölgesindeki nükleotit ifade etmektedir. DNA nükleotit incelenmesinde ilk aşama taksonların karşılaştırılacak DNA bölgelerini tespit etmektir. İlgilenilen bölge belirlendikten sonra, bitki örneklerinden DNA izole edilir ve kimyasal metotlarla saflaştırılır. Bir sonraki aşamada evrensel primerler kullanılarak PZR uygulamaları ile DNA bölgesi arttırılır. Arttırılan bölgelerin nükleotit analizleri yapılarak, nükleotit dizisi belirlenir. Nükleotit dizisi belirlendikten sonra, DNA dizileri filogenetik analizlerde kullanılan karakter ve sayılara dönüştürülür. Daha sonra DNA'nın belli uzunluktaki dizisi sıraya konur, burada homolog nükleotit dizileri aynı sütunda gösterilir. Hizalama işlemi yapıldıktan sonra çeşitli filogenetik analiz programları kullanılarak taksonlar arası akrabalık ilişkileri belirlenmeye çalışılır. Nükleotit dizilerinin büyük bir bölümü, taksonlar arasında sabit olmakla birlikte çok az sayıdaki değişken bölge bilgi verici olarak değerlendirilir ve filogenetik sınıflandırma çalışmalarında kullanılması faydalıdır (Gültepe, 2014).

Bitki sistematigi çalışmaları genomik (nrDNA), mitokondri (mtDNA) ve kloroplast DNA (cpDNA)'ları en çok kullanılan moleküler verilerdir. nrDNA, ata bireylerden yeni nesillere karyokinez (çekirdek) bölünmesiyle eşeyli ve eşeysiz üreme ile aktarılırken, cpDNA ve mtDNA'ları ise çekirdekten bağımsız bölünerek yeni nesillere değişik şekillerde aktarılır. Genellikle tohumlu bitkilerde mtDNA'nın maternal (ana) kökenli, gimnospermlerde ise baba kökenli olduğu rapor edilmiştir (Schmitz, 1988; Taşkın, 2010; Çetiner, 2013).

Son zamanlarda moleküler araştırmalarda bitki populasyonlarındaki varyasyon ya da aynı popülasyona ait bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin açıklanabilmesi için markırlar kullanılmaktadır. Moleküler markırlar kaynağını kendi üretildikleri bitki

DNA'sından aldığından % 100'e yakın güvenirlikte sonuç elde edilebilmektedir. Aynı zamanda çevre koşullarında bozulmamaları, nrDNA, cpDNA ve mtDNA gibi organel genomlarında ayrı ayrı çalışılabilmeleri ve genetik varyasyonları daha fazla yansıtabilmeleri moleküler markırları avantajlı hale getirmektedir (Çetiner, 2013).

Moleküler araştırmalar, iki çeşit DNA markırı olduğunu göstermektedir. Bunlardan ilki hibridizasyona dayalı RFLP tekniğidir. İkincisi ise günümüzde sıkça kullanılan PZR dayalı SSR, RAPD, AFLP ve SRAP teknikleridir (McLenachan vd., 2000; Bailey vd., 2004; Singh vd., 2010). DNA markırları ile alel seviyesindeki farklılıkların belirlenmesi sağlamaktadır. Özellikle sağlık alanında yeni uygulanan SNP markırı ile DNA halkasındaki tek nükleotit farkının belirlenmesi sağlanmaktadır. Ancak bu tekniğin bitki genomunda uygulanması gecikmiştir. Bitki sistematığı çalışmalarında EST uygulamalarının gelişmesi SNP markırlarının kullanımını artıracaktır (Saiki vd., 1998; Varshney vd., 2005).

Yüksek yapılı bitkilerin geniş yayılışlı taksonlarında yaşam alanlarının değişikliği, iklimsel faktörler, kozmopolit ve endemik yayılış, hibritleşme potansiyeli, toprak özelliğinin farklı olmasından kaynaklı bazı genotipik ve fenotipik varyasyonların meydana geldiği belirtilmiştir. Bu gibi durumlarda moleküler yöntemlerin kullanılması taksonomik seviyede sınıflandırmanın doğru bir şekilde yapılmasına imkan tanımiştır (Klug ve Cummings, 2000, 2002; Delforge, 2006). Bütün bu gelişmeler dikkate alındığı zaman moleküler biyoloji alanındaki yöntem ve teknikler bitki sistematik çalışmalarını için daha kullanışlı hale gelmiştir (Baldwin vd., 1995, 1998).

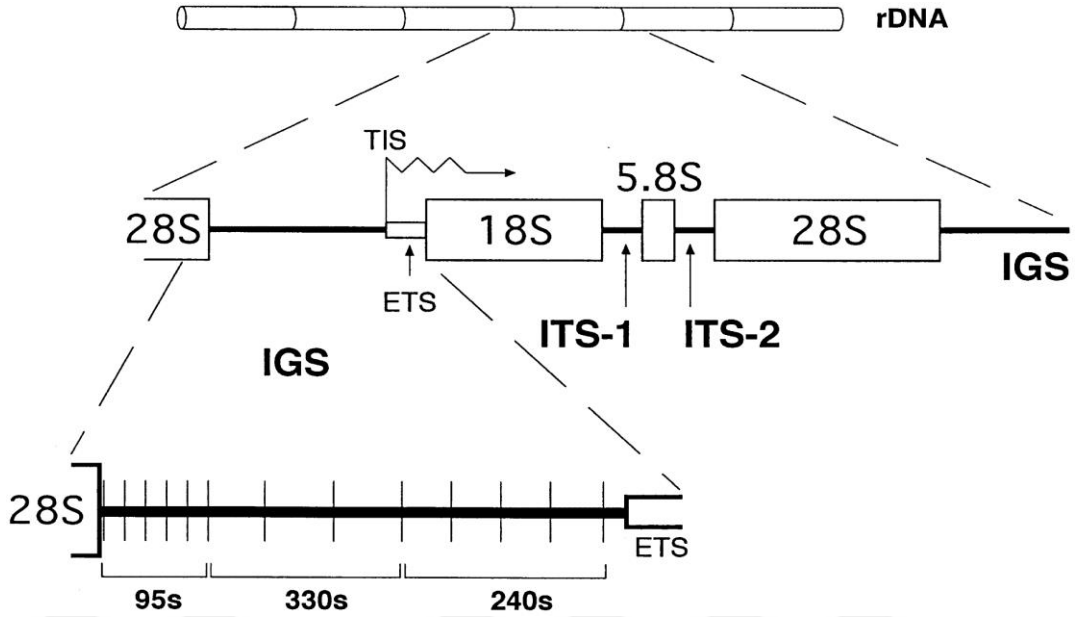
Rekombinat DNA teknolojisi (Genetik Mühendisliği), ilişkili ya da farklı organizmalar arasında genetik materyali değişimi ve tekrardan düzenlenmesi ile alakalı olan teknikler toplamı olan bir interdisipliner teknolojidir. 1970'li yıllarda ortaya çıkan gen mühendisliği gibi yeni gelişmelerin ışığında biyoteknoloji yeni ufuklar açmaya başlamıştır. Karl Ereky tarafından ilk kez kullanılan biyoteknoloji biyosistemler yoluyla mal ve hizmet üretimidir. 1975'li yıllara geldiği zaman ise genetik mühendisliği yöntemlerinden faydalanılarak biyolojik sistemlerin mutasyon ve rekombinat DNA teknolojisi ile değişikliğe uğratılmasıyla modern biyoteknoloji dönemi tam anlamıyla başlamış oldu. Günümüzde bitki ıslahı, hibridizasyon, verimliliğin artırılması, kirli

toprakların temizlenmesi, su korunması, pestisit kullanımında azalma gibi durumlarda biyoteknolojiden yararlanılmaktadır. Gıda biyoteknolojisinde fermantasyon ve enzimlerin çalışma aktivitesinden faydalanılarak bitki kültürlerinin kalitesi artırılmaktadır. Biyoteknolojik uygulamalarla bitkilerin sahip olduğu kimyasal içeriğin belirlenerek, hastalıkların tedavisinde kullanılması tıp camiasında önemli gelişmelerin meydana gelmesine sebep olmuştur (Baltacı ve Yüksekdağ, 2014).

1.2.1. İçsel Kopyalama Bölgesi (ITS)

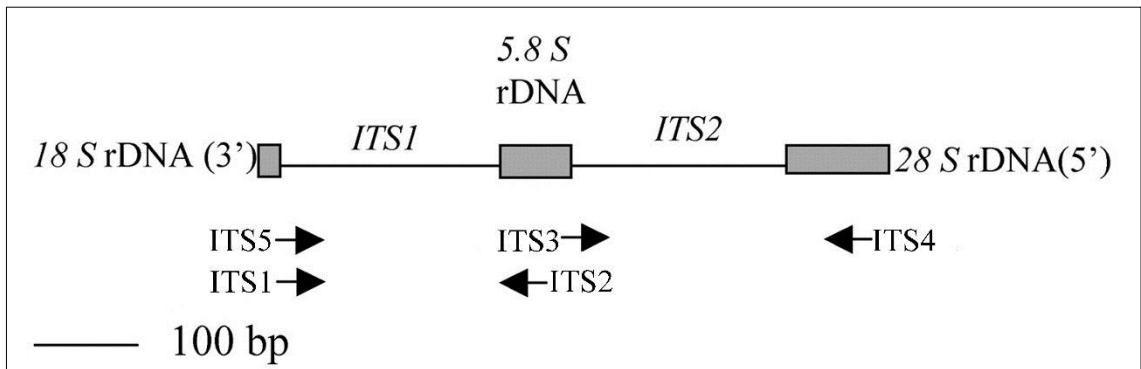
Moleküler biyoloji alanındaki son gelişmeler, türe özgü gen bölgelerinin belirlenmesine ve bitki taksonlarının sistematik açıdan doğru bir şekilde tanımlanmasına imkan tanımıştır. Özellikle yüksek oranda korunmuş kodlayıcı bölgeye sahip ve çok çabuk evrimleşebilen nrDNA ITS ve ETS bitki sistematigiçalışmalarında en çok kullanılan bölgelerdir (Appels ve Dvorak, 1982; Appels ve Honeycutt, 1986; Riven vd., 1986; White vd., 1990; Baldwin vd., 1995; Alverez ve Wendel, 2003).

ETS ribozomal mRNA ile kodlanan dış kopya bölgesidir ve onun promotor bölgesini içermektedir (Şekil 1). ITS bölgesi, 18S ve 26S nrDNA arasında yer alır. Bu bölge 5.8S nrDNA tarafından ITS1 ve ITS2 olmak üzere iki bölgeye ayrılmaktadır. rDNA lokusu 5' den 3' ne doğru okunduğunda 5' ETS, 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rRNA ve son olarak da 3' ETS kısımlarından oluşmaktadır. Bu bölgenin büyüklüğü kapalı tohumlu bitkilerde 565–700 bç (baz çifti) arasında değişiklik gösterirken açık tohumlu bitkilerde ise 1500 ile 3125 nükleotit çiftine kadar çıkabilir. ETS bölgesi, ITS bölgesinden daha fazla varyasyon göstermekte olup tür seviyesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Rodger ve Bendich, 1987; Jorgensen ve Cluster, 1988; Gardesand ve Bruns 1993; Baldwin vd., 1995; Gernandt ve Liston, 1999).



Şekil 1. ITS bölgesinin yapısı ve yerleşim şeması (Mateos ve Markow, 2005)

Bir öncü transkript üzerinde olan bu ara bölgeler, öncü rDNA alt üniteleri arasında yer almaktadır. Ökaryotik organizmalarda iki adet ITS bölgesi yer alır. ITS1, 18S ve 5.8S rDNA bölgeleri arasında yer alırken ITS2, 5.8S ve 28S rDNA bölgeleri arasında bulunmaktadır. Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine bağlanabilen evrensel primerler (ITS1, ITS2, ITS3, ITS4 ve ITS5) kullanılarak PZR teknolojisiyle kolay ve hızlı bir şekilde çoğaltılabilmektedir (Baldwin vd., 1995, 1998; Gernandt ve Liston, 1999). Bu amaçla kullanılan evrensel ITS primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri, Şekil 2’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. ITS primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri

nrDNA üzerinde bulunan ITS bölgeleri moleküler ve sistematik bakımdan taksonlar arasında ayırt edici özelliklere sahip olduğundan taksonomik amaçlar için son derece

kullanışlıdır (Gardesand Bruns 1993; Baldwin vd., 1995; Herskovitz ve Zimmer, 1996; Goertzen vd., 2003; Alvarez ve Wendel, 2003; Hughes vd., 2006).

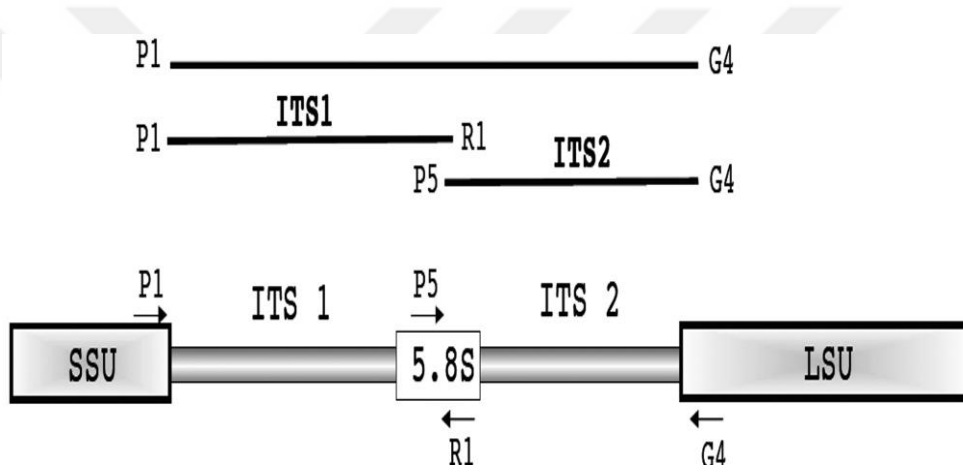
ITS bölgesinin bitki sistematigi çalışmalarında çok fazla tercih edilmesinin başlıca sebepleri şunlardır:

- ITS bölgesi nispeten küçük (500-800 bp) olup evrensel tek bir primer çifti kullanılarak PZR ile kolaylıkla çoğaltılabilir.
- Cins ve tür içi seviyelerde önemli oranda korunmuş rDNA gen bölgelerine komşu pozisyonda yer almaktadır.
- rDNA gen bölgelerine göre daha hızlı nükleotit değişimleri göstermektedir.
- Çok sayıda tekrarının olması nedeniyle uygun olmayan DNA örneklerinden bile kolaylıkla çoğaltılabilir.
- Cins ve tür seviyesinde daha çok filogenetik açıklayıcı bilgiler vermektedir.
- Genomik DNA üzerinde çok sayıda kopyaya sahiptir.

ITS gen bölgesi türe özgü problemleri sayesinde PZR uygulamaları ile çoğaltılabilir. Bunun için birçok araştırmacı dizilerin tekrarlayan birimler şeklinde olması ve türler arasında değişken özellik göstermesi, tür içinde ise benzer olma eğiliminde olmasından dolayı türe özgü olan problemleri geliştirmek için dizileri ITS bölgesinden seçmektedir (White vd.1990, Bruns vd. 1991, Lee ve Taylor 1992; Bobola vd., 1992). ITS bölgelerinde, değişkenlik gösteren bölgelerin yanı sıra aynı zamanda korunmuş bölgeler de bulunmaktadır. Özellikle ITS1 gen bölgesinde merkeze yakın bulunan kısımlarda değişiklik göstermeden kalan korunmuş bölgelerin bulunduğu gösterilmiştir (Govindaraju ve Culli, 1992; Hamby ve Zimmer, 1992; Baldwin, 1999).

Çekirdek genomu üzerinde yer alan rRNA genleri akrabalık ilişkilerini açıklamak için tercih edilmektedir. Ökaryot organizmalarda yaklaşık olarak 5000 kopya içeren nrRNA, küçük altbirim (SSU), büyük altbirim (LSU) ve 5,8S rDNA'lerden oluşmaktadır. Bu iki altbirim iki dış kodlanabilen (ETS) ve bir kodlanmayan (NTS) bölgeleri ile ayrılmaktadır. Nükleus SSU rRNA oldukça korunmuş DNA bölgesi olup, aile, şube, sınıf yada takım bazında filogenetik ilişkilerin değerlendirilmesine imkan tanımaktadır. LSU rRNA ise daha büyük ve değişken olduğu için aile ve takım seviyesindeki ilişkilerin açıklanmasında kullanılmaktadır (Bruns vd., 1991; Steven ve John, 1992; Herskovitz ve

Lewis, 1996; Hwang vd., 1999). Bu bağlamda, ITS1 gen bölgesinde oluşabilecek herhangi bir delesyon-insersiyon ya da nokta mutasyonları olgun SSU (small subunit ribozomal RNA) ve LSU (large subunit ribozomal RNA) rDNA'ların üretimine engel olurken, ITS2 gen bölgesinde meydana gelebilecek bu çeşit mutasyonlar sonucu ise büyük alt birim rRNA'ların oluşumunun zarar gördüğü tespit edilmiştir. Bütün bu görülen değişikliklere nazaran ITS bölgesinin sekonder yapıları oldukça korunmuştur (Baldwin vd., 1995, 1998). Kodlama yapmayan ITS ve IGS bölgeleri çok çabuk evrim geçirdikleri için cinse ait taksonların karşılaştırılması için kullanılmaktadır (Edel, 1998). Bu amaçla kullanılan SSU ve LSU altbirimlerin nukleus genom üzerinde yerleşimi Şekil 3'te şematize edilmiştir.



Şekil 3. SSU (Küçük altbirim) ve LSU (Büyük altbirim) rRNA nukleus üzerindeki yerleşimi

Ökaryotik organizmalarda 5,8S gen bölgesi genellikle ITS bölgeleri ile değerlendirilmekte ve bu bölgenin toplam uzunluğu yaklaşık olarak 700 nükleotit çifti büyüklüğündedir. Çok sayıda takson içeren gruplarda hem kodlama yapan 5.8S bölgesi hem de kodlama yapmayan ITS1, ITS2 bölgeleri DNA dizileme çalışmalarında türlere özgü markır olarak kullanılmaktadır (Liu ve Schardl, 1994; Ivanova vd., 1999; Degreef vd., 2009). Dubouzet vd. (1999), ITS gen bölgesinin korunmuş rDNA bölgesine göre daha fazla değişkenlik gösterdiğini ve filogeni çalışmaları için kullanışlı olduğunu tespit etmiştir. ITS1 ve ITS2 bölgelerinin taksonlar arasındaki ilişkiyi açıklama düzeylerinin farklılık gösterdiği, ITS1 gen bölgesinin daha fazla çözüm sunduğu ve nükleotit içeriğinin ise ITS2 bölgesine göre % 29 daha fazla değişken olduğu ortaya konmuştur (Çetiner, 2013). ITS bölgesi morfolojik olarak da taksonlar arasında

varyasyonlar gösterdiği için genetik uzaklıklarla ilgili tahminlerde bulunmada faydalı olduğu ve filogenetik sistematik analizler için kullanışlı karakterler sağladığı gösterilmiştir (Başaran, 2010). ITS bölgesine ek olarak ETS (Baldwin vd., 1995; Laudet vd., 1999), IGS (Henrion vd., 1994; Buscot vd., 1996), LSU (büyük altbirim) rDNA (Bunyard vd., 1994, 1995; Geml vd., 2004) bölgelerinin PZR uygulamaları ile çoğaltılarak familya ve yakın cinslere ait taksonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini açıklamak için etkili oldukları belirtilmiştir.

ITS bölgesi bitki sistematik çalışmaları için önemli bir veri kaynağı olmasının yanı sıra, morfolojik olarak ayrımları yapılan taksonlar arasında çözümcül olmadığı tespit edilmiştir (Thell ve Miao, 1999; Ivanova vd., 1999). nrITS bölgesinden elde edilen nükleotit dizin sıraları filogenetik bir hipotezi desteklemek için yeterli olurken, reddetmek için yeterli değildir. Biyocoğrafik ve fenotipik verilere göre elde edilen filogenetik hipotez ile bir gene ait verilerden elde edilen soyağacının uyum göstermesi akraba taksonlar arasında ayırım yapılmasına imkan tanımaktadır. Ancak bir gene göre elde edilen filogenetik hipotez fenotipik ve biyocoğrafik verilerle desteklenmediği zaman taksonları tanımlamada yetersiz kalmaktadır (Grube ve Kroken, 2000).

Kapalı tohumlu bitkilerin filogenetik araştırmalarında kullanılan ITS markırları tür içi varyasyon ve sekonder yapının değişimi gibi bazı durumlarda sınırlayıcı etkiler göstermektedir. Hibrit türlere yönelik yapılan moleküler çalışmalarda ITS bölgelerinin kullanımının uygun olmadığı tespit edilmiştir. Çünkü hibrit türlerden elde edilecek ITS nükleotit dizinlerinin hangi atasal genomdan çoğaltıldığının bilinmemesi, güvenilir olmayan yorumlamaların yapılmasına sebep olacaktır (Baldwin vd., 1995; Muir ve Schlotterer, 1999; Mort ve Crawford, 2004). Nieto-Feliner ve Rossello (2007), filogeni araştırmalarında özellikle ribozomal bölgelerin ve allelik varyantların (polimorfizm) sayısının tespit edilememesi nedeniyle, ITS markırlarının homozigotluğun veya heterozigotluğun belirlenmesini zorlaştıracaktır. Alvarez ve Wendel (2003) ITS nükleotit sıralarının diğer markörlere oranla daha fazla homoplazi (evrimleşme sonucu türler arasında ortaya çıkan ortak özellik) içerdiğini ve bu yüzden filogenetik ilişkilerin açıklanması için çözümcül olmayacağını tespit etmişlerdir. Filogeni çalışmalarında ITS gibi kodlanmayan bölgelerin tercih edilmesi benzerlik veri matrisi hesaplamasında

karmaşa görölmesine ve yanıltıcı tahminler yapılmasına sebep olacağı belirtilmiştir (Malyshev, 1997; Castro vd., 2001; Goel vd., 2002; Small vd., 2004). Grube vd. (1995) ve Crespo vd. (1997) likenler üzerindeki araştırmalarında kimyasal içeriğinde inhibitörlerin bulunmasından dolayı ITS bölgesinin biyontları ayırmada yetersiz olduğunu belirtmişlerdir.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çalışma Materyali

Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren 4 *Chamerion* ve 22 *Epilobium* taksonuna ait farklı populasyonlardan toplanan örneklerin nrDNA ITS gen bölgesi nükleotid dizisi belirlenmiştir. Genomik DNA üzerinde yer alan ITS bölgesinin analizi için 10 *Chamerion*, 40 *Epilobium* ile filogenetik ağaçlarda kullanılmak üzere Genbank'tan temin edilen 3 (*E. dodonaei*, *E. palustre* ve *E. obscurum*) örnek olmak üzere toplamda 53 farklı bireye ait nükleotid dizisi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bitki materyalleri taksonların doğal yayılış alanlarından 2014-2015 yılları arasında yapılan arazi çalışmaları ile toplanan bitkilere ait detaylı bilgiler Tablo 1, Ek 3 ve Genbank'tan temin edilen örnekler Tablo 2'de verilmiştir. Toplanan bitki örnekleri, toplama bilgileri ile birlikte numaralandırılmış ve preslenip kurutulan örnekler derin dondurucu içerisinde (-20°C) 24 saat sterilizasyona tabi tutulduktan sonra etiketlenerek Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Biyoloji Bölümü (RUB) herbaryumunda saklanmıştır. Örnek toplama sırasında moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere ayrıca sağlıklı taze yapraklar, içerisinde silika jel bulunan numaralandırılmış poşetler içerisine alınarak saklanmıştır.

Tablo 1. Çalışılan taksonlara ait populasyon bilgisi

Cins	Sıra No	Takson	Populasyon Bilgileri
<i>Chamerion</i>	1	<i>C. angustifolium</i> L.	A7 Trabzon: Çaykara, Uzungöl, 1700m, 23.08.2014, Okur 383 & S. Makbul (RUB); A8 Erzurum: Pasinler, Erzurum çıkışı karayolları, 1968 m, 17.08.2014, Okur 38 & S. Makbul (RUB).
	2	<i>C. colchicum</i> Albow.	A8 Artvin: Yusufeli-Olgunlar, 1476 m, yol kenarı, 17.08.2014, Okur 42 & S. Makbul (RUB); Rize: Çayeli, sahil yolu, 20.09.2015, Okur 142 & S. Makbul (RUB).
	3	<i>C. dodonaei</i> Vill.	A3 Bolu: Bolu Dağı, Kıyaslar mevkii, 724m, 05.08.2014, Okur 345 & S. Makbul (RUB); A5 Kastamonu: Ilgaz, Ilgaz dağı, 1454 m, 20.08.2014, Okur 47 & S. Makbul (RUB).
	4	<i>C. stevenii</i> Boiss.	A7 Gümüşhane: Şiran-Kelkit arası, 1600 m 30.07.2015, Okur 108 & S. Makbul (RUB); Gümüşhane: Şiran, Tersun Dağı, 1741 m, 17.07.2015, Okur 72 & S. Makbul (RUB).

Tablo 2. GenBank' tan temin edinilen taksonlar

Cins	Sıra No	Takson	Kabul No (ITS)
<i>Chamerion</i>	1	<i>E. dodonaei</i>	L28020
<i>Epilobium</i>	2	<i>E. palustre</i>	JF976302
	3	<i>E. obscurum</i>	EF416660

2.2. Moleküler Çalışmalar

2.2.1. DNA İzolasyonu

Silika jel içerisinde kurutulmuş veya herbaryum örneklerinden DNA izolasyonu, modifiye edilen Doyle ve Doyle (1987)'nin CTAB metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre, her bir örnek için önceden seçilmiş kuru yapraklardan 0,025 gr tartılarak steril ortamda jilet yardımıyla öğütüldü. Toz haline getirilmiş yaprak numuneleri bir ependorf tüpüne transfer edildi. Üzerine önceden hazırlanmış CTAB tamponundan 500 µl eklendikten sonra, bu haldeki ekstrakta her bir örnek için 0,02 gr PVPP (polyvinylpolypropodylene) ve 3 µl β-merkaptöetanol ilave edildi. Karışım bir pipet yardımıyla homojenize edildikten sonra 65°C'de 4 saat bekletildi. İnkübasyon sonrası tüpler buz üzerine alınarak 1 dak.soğumaya bırakıldıktan sonra, oda sıcaklığında örnekler 10000 – 14000 rpm'de 1 dak. santrifüj edildi. Santrifüj edilmiş örnekler üzerine 500 µl kloroform eklendikten sonra tüpler homojen olana kadar alt üst edildi, ardından aynı hızda 1 dak. santrifüj gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası tüplerdeki süpernatant kısım alınarak yeni tüplere aktarıldı, üzerine yeniden 500 µl kloroform ilave edildikten sonra tüpler 3–5 kez alt üst edildi ve aynı hızda 1 dak.santrifüj gerçekleştirildi. Santrifüj ardından süpernatant kısım alınarak bir önceki aşama aynen tekrarlandı, daha sonra üst faz alınarak yeni bir ependorf tüpüne transfer edildi. Tüplerden hacmi en fazla olanın kapasitesi belirlendi ve bu hacim baz alınarak diğer tüplerin herbirine eşit oranda hacmin % 8'i kadar 7,5 M amonyum asetat ilave edildi, tüpler birkaç kez alt üst edildikten sonra oluşan hacmin % 54'ü kadar izopropanol ilavesi yapıldı ve süspansiyon iyice karıştırıldıktan sonra +4°C'de en az 2 saat bekletildi (daha iyi sonuçlar için bir gece bekletilmesi tavsiye edilir). Bir gece +4°C'de bekletilen örnekler 3 dakika (10000 – 14000 rpm'de) santrifüj edildi, süpernatant kısım atıldıktan sonra, şeffaf pellet üzerine 1ml % 70'lik etanol ilavesi yapıldı, tüpler birkaç defa alt üst edildikten sonra oda sıcaklığında 10–15 dakika bekletildi. Alkol ilave edilmiş tüpler 3 dakika (10000 –14000 rpm'de) santrifüj edildi, supernatant döküldükten sonra tüm alkolün DNA'dan uzaklaştırılması için tüpler kapakları açık şekilde 15 dak 37°C'de kurumaya bırakıldı. Daha sonra tüplerde bulunan DNA pelleti, 50 µl TE ilavesi ile çözüldü. Pelletin tamamen çözülmesi için örnekler, 15 dakika 65°C'de su banyosunda tutuldu, ortamda bulunan RNA'ların uzaklaştırılması için her 100 µl'lik hacim için 1 µl RNaz ilavesi yapıldı. Elde

edilen toplam DNA'ların varlığı agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildikten sonra +4°C'de stoklandı.

2.2.2. ITS Gen Bölgesinin PCR Çalışması İle Çoğaltılması

İzole edilen total DNA'dan 8 µl, her bir primerden 2µl (ITS4 (5'–CCTCCGCTTATTGATATGC –3') ve ITS5 (5'–GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG–3')) (White vd., 1990), primerleri kullanılarak bu iki gen bölgesi 5X'lik reaksiyon tamponundan 10 µl, 2,5 mM MgCl₂'den 3 µl, 0,5 mM dNTP'den 2 µl, 1 ünite Taq DNA polimeraz dan 0,5 µl ve son hacim 50 µl olacak şekilde distile su ile tamamlanarak PZR karışımı hazırlandı. Hazırlanan bu karışım ise yukarıda belirtilen gen bölgelerine ait primerler ile birlikte Biorad Personal Thermal Cycler cihazında artırılmıştır. Bu iki gen bölgesinin artırılması için gerekli olan PZR şartları (Tablo 3) belirtilmiştir.

Tablo 3. PZR döngü şartları

Uygulanan İşlemler	ITS
DNA çift zincirinin ayrılması (ön denatürasyon)	95°C (2 dk)
DNA çift zincirinin ayrılması (denatürasyonu)	94°C (1 dk)
Primerlerin bağlanması (annealing)	55°C (45 sn)
DNA sentezi (extension)	72°C (1 dk)
Döngü sayısı	36
Son uzatma (final extension)	72°C (5 dk)

PZR şartlarının tekrar edilebilmesi için, örneklere ait çoğaltma işlemi birbirinden bağımsız olarak iki kez tekrar yapılmıştır. PZR analizinde olması muhtemel kirlilik/bulaşma durumunu ortadan kaldırmak için her analizde, genomik DNA içermeyen negatif kontroller tercih edilmiştir.

2.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

PZR ürünlerinin elektroforezi, 5 µl yükleme tamponu (% 50 gliserol, % 0,05 bromofenolblue, 0,2 M EDTA) ilave edilerek agaroz jel ortamında gerçekleştirilmiştir. On iki hücreli jel tepsi tercih edilerek, % 1'lik agarozda, IX TAE (Trizma Base, Glacial Asetik Asid, EDTA) tamponunda 30 dakika süre ile 96 voltta yürütülen örnekler, 0,25 µg/ml etidiumbromid boyası ile boyanmış ve UV ışığı altında görüntülenmiştir.

2.2.4. Nükleotit Dizin Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

PZR ürünlerinin dizin analizleri Macrogen firmasına (Amsterdam, Hollanda) hizmet alımı yöntemiyle yaptırılmıştır. Bu okumaların ilk safhasını PZR ürünlerinin saflaştırılması aşamasını içermektedir. Saflaştırmadan sonra ITS PZR ürünleri ITS1 ve ITS2 bölgelerine denk gelen bölümlerinden itibaren dizayn edilen EPIF (5'-CGGAACGTGCCAAGGAAC-3') ve EPIR (5'-ACCACCGCGTGCCTCGG-3') primerleriyle okunmuştur. EPIF 26S yönünde, EPIR ise 18S yönünde okuma yapmıştır. Belirlenen nükleotit dizisi verileri, EPIR primeriyle okutulan bölgenin ters tekrarı (reverseantisensi) ve EPIF ile okutulan bölgenin aynen alınması ile karşılaştırılmış ve orta kısımda bulunan aynı tekrar bölgelerden birisi silinerek her bir örnek için ITS (ITS1+ 5.8S +ITS2) bölgesi elde edilmiştir.

2.2.5. Dizi Hizalama ve Filogenetik Analiz

ITS dizileri filogenetik analizler için Bioedit v. 7.0 (Hall, 1999) programı ile hizalanmıştır. Türler arası "Benzemezlik Matrisi" Pairwise Distance (ikili dizin mesafesi) tekniğinden yararlanılarak ve MEGA v. 5.05 (Tamura vd., 2011) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Taksonlar arasındaki akrabalık ilişkileri, MEGA versiyon 5.05 (Tamura vd., 2011) programında bulunan Maksimum Parsimoni (MP), Minimum Likelihood (ML) ve Neigber Joining (NJ) analizleri ile ortaya çıkarılmıştır. Filogenetik analizler için *Epilobium* cinsine yakın olan cinslere ait taksonlardan *Oenothera nuttallii* Sweet (KT459283), *Gaura triangulata* Buckley (AJ620534), *Camissonia benitensis* P.H. Raven (JX885873), *Stenosiphon linifolius* (Nutt. ex E. James) Heynh (AJ620542), *Circaeaalutetiana* var. *canadensis* L. (AY357770) ve *Circaeaalpina* L. (AY337769) dış

grup olarak kullanılmıştır. Bu taksonların nükleotit dizileri GenBank'tan temin edilmiştir. Ağaç topolojisindeki dallar arasındaki güvenilirlik değerleri 100 tekrar seç-bağla (Bootstrap) testi (Felsenstein, 1985) ile saptanmıştır.



3. BULGULAR

Bu bölümde, çekirdek DNA üzerinde yer alan ITS bölgesinin nükleotit dizisi elde edilmiştir. Moleküler analizler ile bu ITS bölgesinin nükleotit uzunlukları ve % G-C içerikleri belirlenmiş, nükleotit dizileri kullanılarak elde edilen benzerlik matrisleri ve taksonlar arası akrabalık ilişkilerini gösteren ağaçlar (Şekil 4-6) gösterilmiştir.

3.1. ITS Dizin Özellikleri

Tez kapsamında incelenen 11 *Chamerion* ve 42 *Epilobium* örneğinin nrDNA ITS (ITS1+5.8S+ITS2) bölge uzunluklarının 616 – 620 bp ve % GC içeriğinin ise 53.4–56.8 aralığında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4-5). *Chamerion* cinsinde yer alan taksonların 616 bp uzunluğunda ve % GC oranının ise 53,4–54,1 aralığında olduğu görülmüştür. *Epilobium* cinsine ait taksonların nrDNA ITS bölgesinin nükleotit dizilerinin uzunluğunun 616 – 620 bp, % G-C içeriğinin 55,3–56,8 arasında değiştiği tespit edilmiştir. İncelenen *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarının ITS bölgelerinin MEGA5 programı ile hizalanması sonucu 618 nükleotit dizisinden oluşan bir veri seti elde edilmiştir. Bu veri setinde 70 (% 11,2) nükleotidin parsimonik (bilgi verici), 107 (% 17,1) tanesinin değişken (V) ve 516 (% 82,6) tanesinin de korunmuş (C) nükleotit olduğu tespit edilmiştir (Tablo 6; Ek 4). *Chamerion* taksonlarının ITS bölgesinin hizalanması sonucu 616 nükleotit dizisinden oluşan bir veri seti elde edilmiştir. Bu veri setinde 1 (% 0,16) nükleotidin parsimonik, 10 (% 1,6) tanesinin değişken ve 605 (% 98,2) tanesininde korunmuş nükleotit olduğu belirlenmiştir (Tablo 6; Ek 4). *Epilobium* mensuplarının ITS bölgesinin hizalanması sonucu ise 19 (% 0,3) nükleotidin parsimonik, 94 (% 15,2) tanesinin değişken, 521 (% 84,3) tanesininde korunmuş nükleotit olduğu görülmüştür (Tablo 6; Ek 4). Aynı veri setine göre transisyon/transversiyon oranı ise 1.70 olarak hesaplanmıştır. İkili dizin mesafesi analizi yoluyla *Chamerion* ile *Epilobium* taksonları arasında “Benzemezlik Matrisi” oluşturulmuştur (Tablo 7). Bu matris, dış grup taksonları hariç toplam 26 taksona ait 53 örneğin % 0.00–11,6 arasında değişen farklılıklara sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Ülkemizde yayılış gösteren *Chamerion* ve *Epilobium* taksonları içerisinde *E. minitiflorum* ile *C. dodonaei* taksonlarının % 11,6’lık mesafe ile birbirlerine en uzak taksonlar olduğu tespit edilmiştir (Tablo 7). *Chamerion* cinsine ait taksonlardan *C. stevenii* ile *C. colchicum* taksonları % 1,4’lük mesafe ile birbirine en uzak

taksonlar olduğu görülmektedir. *Epilobium* üyelerinden *E. minitiflorum* ve *E. algidum* taksonları % 11,6'lık mesafe ile birbirine en uzak taksonlar olduğu belirlenmiştir. *Epilobium* taksonlarından *E. gemmascens*, *E. palustre*, *E. roseum* subsp. *roseum* ve *E. roseum* subsp. *subsessile* taksonlarının tür içi % 100 benzerlik oranına sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda *E. roseum*'un üç alttürünün % 0,3'lük ve *E. tetragonum*'un ise bir alttürünün diğer iki alttürden % 0,2'lik mesafe ile birbirlerinden ayrıldığı görülmektedir.

3.1.1. İncelenen *Chamerion* Taksonlarının Filogenetik İlişkileri

İncelenen *Chamerion* cinsine ait taksonların nrDNA ITS bölgesine dayalı akrabalık ilişkilerini gösteren ağaçlar (MP, ML ve NJ) Şekil 4-6'da verilmiştir.

ITS (ITS1, 5,8S rRNA, ITS2) bölgesi nükleotit sıralarına dayalı verilerinden elde edilen MP ağaç topolojisi dikkate alındığında, incelenen *Chamerion* ve *Epilobium* cinsi taksonlarının dış grup olarak belirlenen taksonlardan düşük seç-bağla (% 53) değeri ile ayrılarak bir grup oluşturdukları görülmektedir. MP ağaç topolojisinde zigomorf simetrik, serbest sepalli ve parçalı stigmaya sahip, *C. angustifolium*, *C. colchicum*, *C. dodonaei*, *C. stevenii* taksonlarının yüksek seç bağla (% 100) değeri ile Klad II'de kümelendikleri görülmektedir (Şekil 4).

ITS verilerine dayalı çizilen ML ve NJ soy ağaçlarının MP analizi sonucu elde edilen filogenetik ağaçlar ile büyük oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 5-6). NJ ve ML ağaç topolojilerinde MP ağacında olduğu gibi incelenen *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarının dış grup taksonlardan sırasıyla % 53 ve %61 seç-bağla değerleri ile dış grup taksonlardan ayrılarak bir grup oluşturdukları tespit edilmiştir. NJ ile MP analizine göre *Chamerion* taksonlarının kendi içerisinde % 100 seç bağla değerleri ile kümelendikleri ve grubun MP analizi sonucu elde edilen filogenetik ağaçtaki (Şekil 5) sırasıyla Klad II'e tekabül ettiği görülmektedir.

3.1.2. İncelenen *Epilobium* Taksonlarının Filogenetik İlişkileri

İncelenen *Epilobium* cinsine ait taksonların nrDNA ITS bölgesinin MP, ML ve NJ analizleri sonucu oluşturulan taksonlar arası filogenetik ilişkiler Şekil 4-6'da oluşturulan ağaç topolojilerinde verilmiştir.

ITS (ITS1+ 5,8S rDNA+ ITS2) bölgesinin dizin analizi sonucu elde edilen MP ağaç topolojisi dikkate alındığı zaman, *Epilobium* taksonlarının *Chamerion* taksonlardan yüksek seç-bağla (% 100) değerleri ile ayrılarak yekpare bir grup oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 4). ITS nükleotit dizinlerinin analizi sonucu çizilen MP filogenetik ağacında *Epilobium* cinsine ait taksonların Klad I içerisinde yer aldığı, kendi içerisinde iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir. Bunlardan birinci ana grubu yüksek seç-bağla değeri (>%50) ile birlikte kümelenen parçalı stigmaya sahip *E. hirsutum* taksonuna ait populasyon örnekleri oluşturmaktadır. İkinci ana grubun yer aldığı ve yüksek seç-bağla değeri (%77) ile oluşan B grubu ise C, D ve E olmak üzere 3 alt kola ayrılmaktadır. *E. algidum*, *E. anatolicum*, *E. confusum*, *E. frigidum*, *E. gemmascens*, *E. lanceolatum*, *E. montanum*, *E. minitiflorum*, *E. ponticum*, *E. parviflorum*, *E. obscurum*, *E. roseum* subsp. *consimile*, *E. roseum* subsp. *roseum* ve *E. roseum* subsp. *subsessile*, *E. tetragonum* subsp. *lamyüii*, *E. tetragonum* subsp. *tetragonum* ve *E. tetragonum* subsp. *tournefortii* taksonları düşük seç bağla değeri ile (< % 50) C alt kolunu, *E. algidum*, *E. anagallidifolium*, *E. palustre*, *E. prinophyllum* ve *E. roseum* subsp. *consimile* taksonları düşük seç bağla değeri ile (< % 50) D alt kolunu, *E. alpestre* ve *E. confusum* taksonları E alt kolunu oluşturmuştur (Şekil 4).

ITS (ITS1+ 5,8S rDNA+ ITS2) verilerine dayalı çizilen ML ve NJ ağaç topolojilerinin MP analizi verilerinden elde edilen ağaç topolojisi ile büyük oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 5-6). NJ ve ML ağaç topolojilerinde incelenen *Epilobium* taksonlarının MP ağaç topolojisinde olduğu gibi yüksek seç-bağla (% 100) değerleri ile *Chamerion* taksonlardan ayrılarak tek bir ana grup oluşturdukları tespit edilmiştir. ITS dizilerine göre NJ ve ML analizleri sonucu çizilen ağaç topolojilerinde *Epilobium* taksonlarının kendi içinde iki ana gruba ayrıldıkları ve bu ana grupların MP analizi sonucu elde edilen filogenetik ağaçdaki (Şekil 5-6) sırasıyla Klad I' de yer alan A ve B ana grubu ile C, D, E alt kollarına tekabül ettiği görülmektedir. Ancak B grubunu oluşturan *Epilobium* taksonlarının NJ analizi ile elde edilen ağaçta % 77 seç bağla değeri

ile bir araya gelmişken ML ağaç topolojisinde ise % 68 seç-bağla değeri ile bir araya geldikleri görülmektedir (Şekil 5-6).

Tablo 4. *Chamerion* taksonlarının ITS dizi uzunlukları (bç) ve % GC içeriği

	Sıra No	Taksonlar	ITS	
			% G-C	bç
<i>Chamerion</i>	1	<i>C. angustifolium</i>	54,1	616
	2	<i>C. colchicum</i>	53,9	616
	3	<i>C. dodonaei</i>	53,6	616
	4	<i>C. stevenii</i>	53,4	616

Tablo 5. *Epilobium* taksonlarının ITS dizi uzunlukları (bç) ve % GC içeriği

	Sıra No	Taksonlar	ITS	
			%G-C	bç
<i>Epilobium</i>	1	<i>E. algidum</i>	56,3	618
	2	<i>E. alpestre</i>	56,5	616
	3	<i>E. anagallidifolium</i>	56,3	618
	4	<i>E. anatolicum</i>	56,3	618
	5	<i>E. confusum</i>	56,3	618
	6	<i>E. frigidum</i>	56,6	618
	7	<i>E. gemmascens</i>	56,3	618
	8	<i>E. hirsutum</i>	56,8	618
	9	<i>E. lanceolatum</i>	55,7	620
	10	<i>E. minitiflorum</i>	56,6	618
	11	<i>E. montanum</i>	55,3	620
	12	<i>E. obscurum</i>	56,8	620
	13	<i>E. palustre</i>	56,2	619
	14	<i>E. parviflorum</i>	56,8	618
	15	<i>E. ponticum</i>	56,3	618
	16	<i>E. prinophyllum</i>	56,3	618
	17	<i>E. roseum</i> subsp. <i>roseum</i>	55,7	619
	18	<i>E. roseum</i> subsp. <i>consimile</i>	56,0	618
	19	<i>E. roseum</i> subsp. <i>subsessile</i>	56,5	618
	20	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>tetragonum</i>	56,8	618
	21	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>lamyii</i>	56,8	618
	22	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>tournefortii</i>	56,7	618

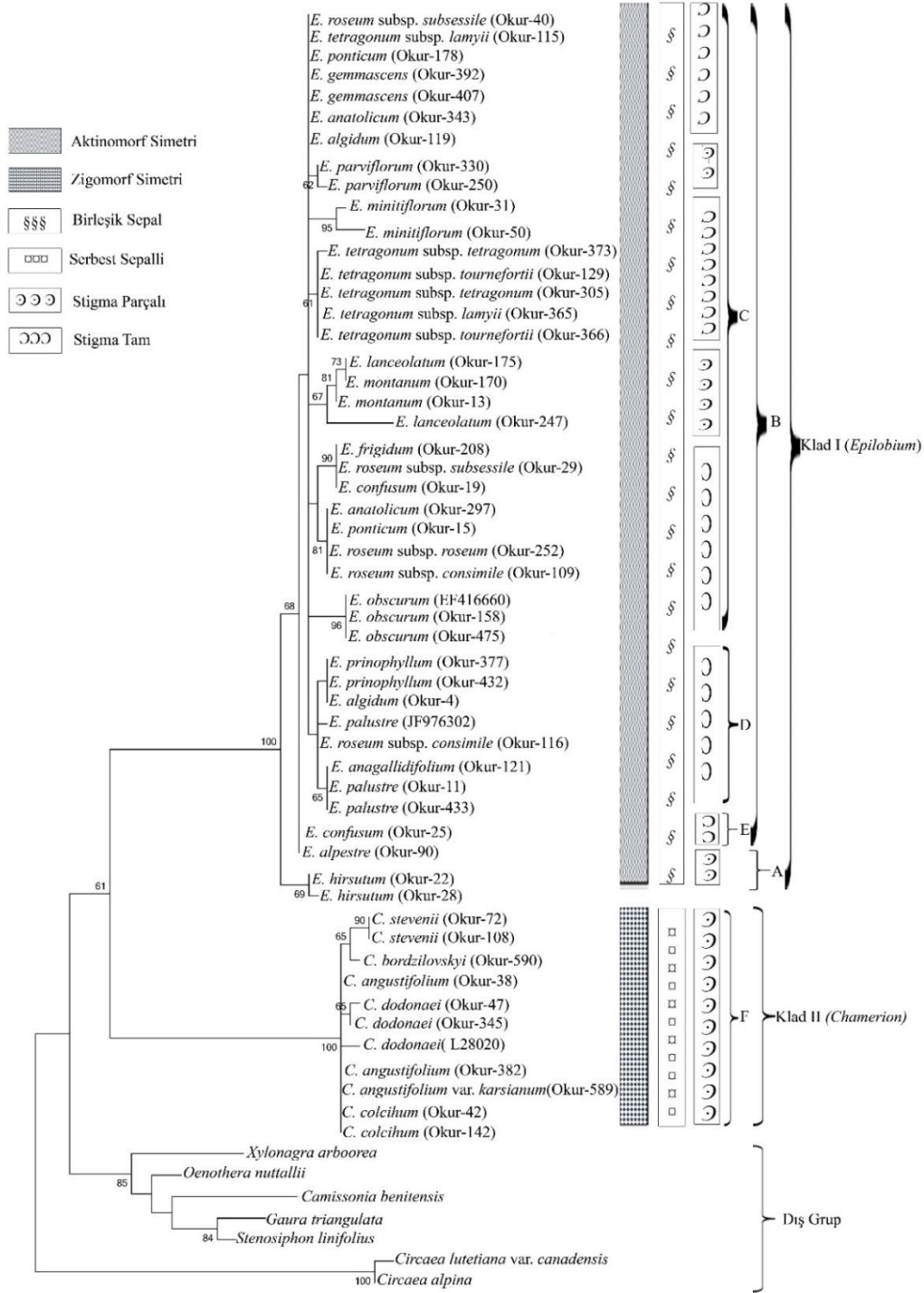
Tablo 6. Taksonlar arasında ITS bölgesine dayalı parsimonik bilgi verici nükleotit pozisyonları

Taksonlar	ITS (ITS1+5,8S+ITS2)																								
	1	2	4	4	5	5	7	7	7	8	8	8	8	8	9	9	9	9	1	1	1	1	1	1	1
	4	7	1	7	6	7	2	3	5	0	2	4	5	6	4	5	6	9	0	2	2	2	2	2	2

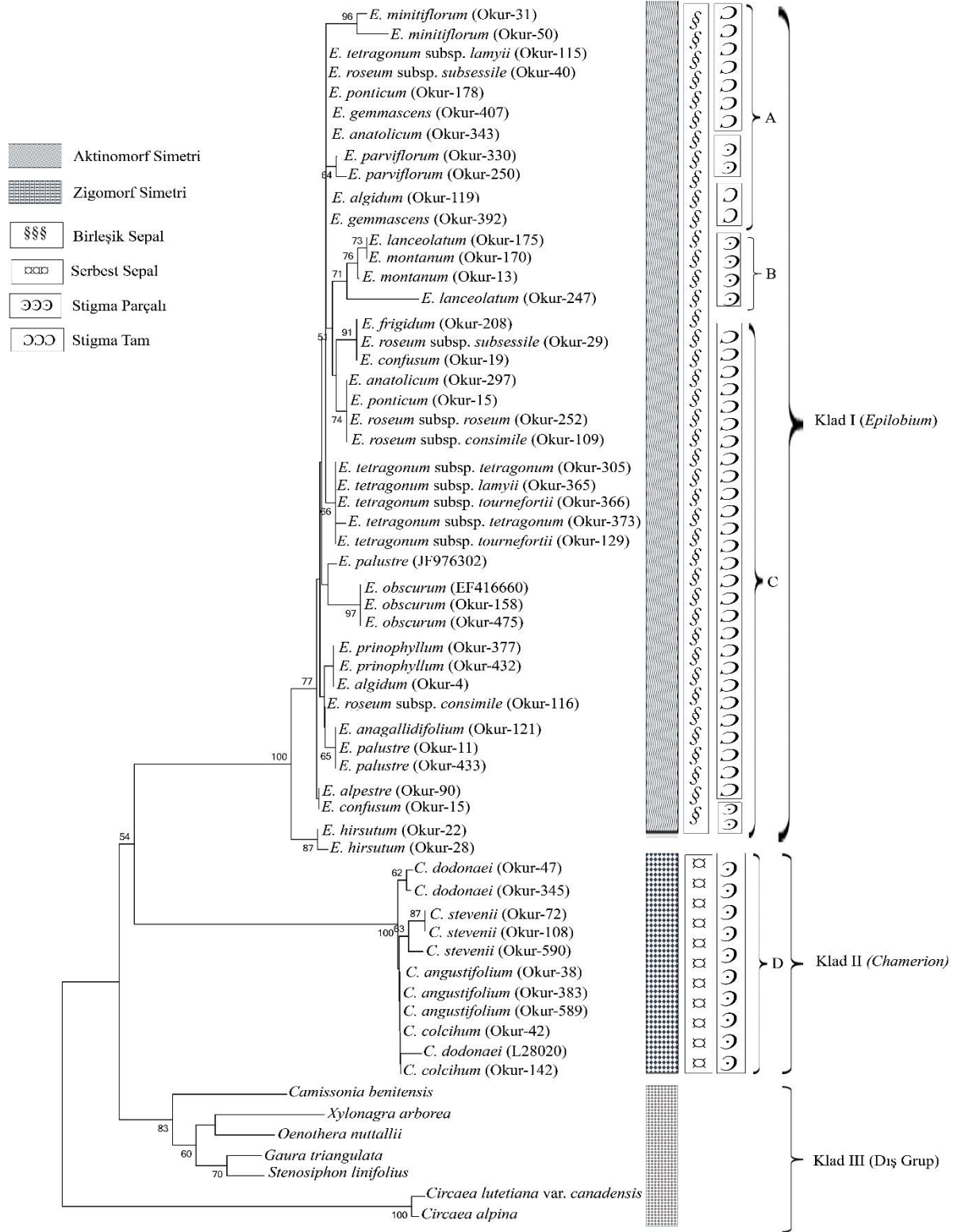
<i>Chamerion</i>	<i>C. angustifolium</i>	C	T	T	A	A	T	C	.	T	C	G	.	T	T	T	C	T	T	G	T	C	T	T	A
	<i>C. colchicum</i>	C	T	T	A	A	T	C	.	T	C	G	.	T	T	T	C	T	T	G	T	C	T	T	A
	<i>C. dodonaei</i>	C	T	T	A	A	T	C	.	T	C	G	.	T	T	T	C	T	T	G	T	C	T	T	A
	<i>C.stevenii</i>	C	T	T	A	A	T	C	.	T	C	G	.	T	T	T	C	T	T	G	T	C	T	T	A
<i>Epilobium</i>	<i>E. algidum</i>	T	C	C	G	C	G	T	T	C	A	A	A	C	C	C	T	G	C	A	C	A	C	G	G
	<i>E. alpestre</i>	G
	<i>E. anagallidifolium</i>
	<i>E. anatolicum</i>
	<i>E. confusum</i>	G
	<i>E. frigidum</i>	G	.	.	.	G
	<i>E. gemmascens</i>
	<i>E. hirsutum</i>	G	G
	<i>E. lanceolatum</i>	T
	<i>E. minitiflorum</i>	G	A
	<i>E. montanum</i>	T
	<i>E. obscurum</i>
	<i>E. palustre</i>
	<i>E. parviflorum</i>
	<i>E. ponticum</i>
	<i>E. prinophyllum</i>	G
	<i>E. roseum</i> subsp. <i>roseum</i>	.	T
	<i>E. roseum</i> subsp. <i>consimile</i>
	<i>E. roseum</i> subsp. <i>subsessile</i>	G	.	.	.	G
	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>tetragonum</i>	C
	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>lamyii</i>	C
	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>tournefortii</i>	C



Şekil 4. ITS bölgesinin MP analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç (MEGA 1000 tekrara dayalı seç-bağla değerleri % 50'den yüksek olanlar verilmiştir)



Şekil 5. ITS bölgesinin ML analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç (MEGA 1000 tekrara dayalı seç-bağla değerleri % 50'den yüksek olanlar verilmiştir)



Şekil 6. ITS bölgesinin NJ analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç (MEGA-1000 tekrara dayalı seç-bağla değerleri % 50'den yüksek olanlar verilmiştir)

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile Türkiye’de yayılış gösteren *Epilobium* ve *Chamerion* cinslerine ait taksonların cins içi ve cinsler arası akrabalık ilişkileri nrDNA ITS dizilerine göre ilk kez kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. İncelenen taksonlar arasındaki filogenetik ilişkiler ortaya konularak bu iki cinsin taksonomik problemlerinin çözümüne katkılar sağlanmıştır.

Epilobieae tribusu üzerinde moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar *Chamerion* ve *Epilobium* cinsinin monofiletik olduğunu ortaya koymuştur (Conti vd., 1993; Baum vd., 1994; Levin vd., 2003, 2004). Tez kapsamında dış grup olarak kullanılarak *Onagreae* tribusunda yer alan *Camissonia benitensis*, *Gaura triangulata*, *Oenothera nuttallii*, *Oenothera suffrutescens*, *Stenosiphon linifolius*, *Xylonagra arborea* ve *Circaeae* tribusunda yer alan *Circaea lutetiana* var. *canadensis*, *Circaea alpina* taksonları ile oluşturulan filogenetik ağaçlarda (Şekil 4-6) *Chamerion* ve *Epilobium* cinsinin ülkemiz üyelerinin yüksek seç-bağla (%100) değerleri ile dış grup taksonlarından ayrılarak farklı ana gruplar oluşturdukları görülmüştür. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi *Chamerion* ile *Epilobium* cinsinin monofiletik olduğu görüşünü desteklemektedir (Conti vd.,1993; Baum vd., 1994; Levin vd., 2003, 2004). Aynı zamanda *Chamerion* taksonlarının seçilen ITS bölgesi bakımından % 99,1- % 99,9 benzerlik oranlarına sahip, *Epilobium* taksonlarının ise seçilen ITS bölgesi bakımından % 97,2-% 100 benzerlik oranlarına sahip oldukları tespit edilmiştir. Bununla birlikte ITS bölgesinin yüksek oranda parsimonik bilgi verici nükleotit içerdiği ve bu yüzden taksonlar arası ilişkiyi daha net ortaya koyduğu görülmektedir.

Bitki sistematğinde son zamanlarda familya, cins ve taksonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin ortaya konulmasında ITS bölgesi nükleotit dizileri sıklıkla kullanılmaktadır (Baldwin vd., 1995; Ogundipe ve Chase, 2008). ITS bölgesinin diğer gen bölgelerine kıyasla yüksek oranda parsimonik bilgi verici nükleotit dizisi içermesi bu bölgeyi daha cazip hale getirmiştir (Alvarez ve Wendel, 2003; Hughes vd., 2006). Baum vd. (1994)’nin ITS bölgesine dayalı yaptıkları moleküler çalışmada *Epilobium* cinsi içerisindeki seksiyonları oluşturan türlerin gruplanarak bir araya geldiğini ancak seksiyonlar arasındaki ilişkilerin tam olarak anlaşılmasına imkan tanımadığını

belirtmişlerdir. Aynı zamanda elde edilen filogenetik ağaçta, *Epilobium* ve *Chamaenerion* seksiyonlarına ait taksonlar yüksek seç-bağla değeri (%100) ile birbirlerinden ayrı kollarda gruplanmıştır. Aynı araştırmacılar *Chamaenerion* taksonlarının monofiletik, *Epilobium* taksonlarının ise polifiletik gruplar oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan ITS bölgesine dayalı moleküler analizlerde *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerinin belirgin şekilde ayrıldığı ancak *Epilobium* cinsinde kullanılan tüm taksonların *Epilobium* seksiyonunda yer almasından dolayı herhangi bir seksiyonel katkı tespit edilememiştir.

ITS bölgesinin analizi sonucu oluşturulan filogenetik ağaçlarda *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerine ait taksonların dış grup taksonlardan düşük seç-bağla değeri (%53-61) ile ayrıldıkları görülmüştür (Şekil 4-6). Aynı zamanda ITS bölgesi analizlerine göre oluşturulan filogenetik ağaçlarda *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarının yüksek seç-bağla oranı ile birbirinden ayrıldığı görülmektedir. Aynı zamanda moleküler analizler sonucunda *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerinin nrDNA ITS baz uzunluklarının 616-620 bç, % G-C içeriğinin ise 53,4- 56,8 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 4-5). Baum vd. (1994), *Chamenerion* ve *Epilobium* seksiyonlarına ait taksonlarda ITS bölge uzunluğunun ve % G-C içeriğinin değiştiğini rapor etmişlerdir. *C. angustifolium*'un 54,1 % G-C oranı ile diğer *Chamerion* üyelerinden ayrıldığı görülmüştür (Tablo 4). Literatür verileri değerlendirildiği zaman *E. angustifolium* taksonunun gövdesinin dallanmamış, tohum yüzeyinin düz olması ve tohum yüzeyindeki antiklinal çeperlerin dalgalı olması ile diğer *Chamaenerion* mensuplarından ayrıldığı ifade edilmiştir (Chamberlain ve Raven, 1972; Okur vd., 2015). Mevcut çalışmamızda *Epilobium* cinsine ait taksonların ITS bölgesi baz uzunluğunun 616-620 bç, % G-C oranının ise 55,3-56,8 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 5). Yapılan moleküler analizler sonucu *Chamerion* ve *Epilobium* cinslerine ait taksonların ITS bölgesine dayalı parsimonik bilgi verici nükleotit pozisyonlarında farklar olduğu tespit edilmiştir (Tablo 6 Ek 4). Benzer şekilde *Epilobium* cinsi üzerinde gerçekleştirilen ITS bölgesine dayalı çalışmalarda % G-C içeriği ve parsimonik bilgi verici nükleotitlerin taksonlar arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Conti vd., 1993; Baum vd., 1994; Lorimer, 2007). *Chamerion* cinsi morfolojik olarak zigomorf simetrik, serbest sepalli, obovat petalli, tüylü stilus ile spiral yaprak dizilişli taksonlara sahipken, *Epilobium* cinsi aktinomorf simetrik, birleşik sepalli, obkordat petalli, tüysüz stilus ile karşılıklı veya dairesel yaprak dizilişli taksonlarla

karakterize edilmektedir (Chamberlain ve Raven, 1972). Filogenetik ağaçlardan elde edilen bu sonuçlar moleküler özellikleri ile morfolojik özelliklerin çok yüksek oranda uyumlu olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde cinsler arasındaki ayırım yayımlanmamış palinolojik ve tohum morfolojisi verileri tarafından da desteklenmektedir (Patel vd., 1984; Akbari ve Azizan, 2006; Okur vd., 2015). *Chamerion* taksonları monad polenler ve granülsüz tohum yüzeyine sahipken *Epilobium* taksonları tetrad polenler ve granüllü tohum yüzeyi özelliği ile karakterize edilmektedir. Keating (1982) yaprak anatomisi özelliklerine göre ve Mertayak vd. (2016) genel anatomik özelliklerine göre *Chamerion* ve *Epilobium* taksonları arasında önemli farklılıkların bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen moleküler verilerin, morfolojik, palinolojik ve anatomik verilerle uyumlu olduğu ve söz konusu iki grup için öne sürülen cins olmaları fikrini desteklediği görülmektedir.

Zigomorf simetridir, ayrı sepalli ve parçalı stigmaya sahip *Chamerion* cinsi üyeleri *C. angustifolium*, *C. colchicum*, *C. dodonaei* ve *C. stevenii* taksonları ITS verilerinin analizi sonucu oluşturulan MP, ML ve NJ ağaç topolojilerinin büyük oranda benzerlik gösterdiği ve *Chamerion* taksonlarının dış grup taksonlardansirasıyla % 53 ve %61 seç-bağla değerleri ile ayrılarak tek bir grup oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4-6). Ancak *Chamerion* grubu içerisinde yer alan taksonların popülasyon düzeyinde daha kararlı bir gruplaşma sergilediği görülmektedir. Bu grupta yer alan *C. dodonaei* morfolojik olarak *C. stevenii* ile yakın benzerlik göstermektedir. Ancak moleküler veriler bu iki taksona ait popülasyonların yüksek seç-bağla (>%60) yüzdesi ile ayrıldığını ortaya koymaktadır. Benzer şekilde diğer *Chamerion* mensupları da popülasyonlar şeklinde kararlı gruplar oluşturmuştur.

Tzvelev (2014), Kars civarından toplanan *Chamerion* cinsine ait *C. angustifolium* taksonlarını petal rengine göre *C. angustifolium* var. *karsianum* adlı bir varyete olarak tanıtmıştır. Yapılan arazi çalışmaları sonucunda bölgeden toplanan örnekler moleküler yönden de analize tabi tutulmuştur. ITS verileri ışığında elde edilen filogenetik ağaçlarda Okur 589 & S. Makbul numaralı *C. angustifolium* var. *karsianum* taksonununun çalışmamızda kullanılan popülasyon örnekleri ile aynı yerde gruplandıkları görülmüştür. Mevcut çalışmamızda böyle bir ayırımın olmadığı ve taksona ait bireylerin yüksek seç-bağla değeri (>%50) ile kendi aralarında bir araya geldikleri tespit edilmiştir. Tüm

incelenen özellikler bakımından bu taksonun *C. angustifolium* taksonu ile büyük oranda benzer olduğu görülmüştür. Bu durum, *C. angustifolium* var. *karsianum* taksonununun Tzvelev'in aksine *C. angustifolium*'un petal rengi farklı olan bir formu şeklinde yorumlanmıştır (Şekil 4-6). Ayrıca Tzvelev (2014) aynı bölgeden 1909 yılında toplanan örnekleri çiçek rengini dikkate alarak *C. bordzilovskyi* adında yeni tür olarak bilim dünyasına tanıtmıştır. Tip bölgesinden toplanan örnekler (Okur 590 & S. Makbul) moleküler yönden incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda morfolojik olarak benzer olduğu belirlenen *C. stevenii* taksonu ile bir araya geldiği görülmüştür. Bu nedenle Tzvelev (2014) tarafından bilim dünyasına *C. bordzilovskyi* ismi ile tanımlanan takson *C. stevenii*'nin petal renginin farklı bir formu olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4-6).

ITS (ITS1+ 5,8S rDNA+ ITS2) bölgesinin dizin analizi sonucu elde edilen MP, ML ve NJ ağaç topolojileri dikkate alındığı zaman, *Epilobium* taksonlarının *Chamerion* ve dış grup taksonlarından yüksek seç-bağla (% 100) değerleri ile ayrılarak tek bir grup oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 4-6). Bu durum daha önce yapılmış olan çalışmalarda belirtildiği üzere *Epilobium* cinsinin monofiletik olduğu görüşünü destekler niteliktedir (Baum vd., 1994; Levin vd., 2003; 2004). Aktinomorf simetrik, birleşik sepalli, parçalı ve tam stigmaya sahip olan *Epilobium* cinsine ait taksonların ITS analiz sonuçlarına göre oluşturulan filogenetik ağaçlarda iki ana grup ve üç alt kola ayrıldığı tespit edilmiştir (Şekil 4-6). Tam stigmaya sahip *E. algidum*, *E. anatolicum*, *E. confusum*, *E. frigidum*, *E. gemmascens*, *E. minutiflorum*, *E. obscurum*, *E. ponticum*, *E. roseum* ile *E. tetragonum* taksonları, parçalı stigmaya sahip *E. montanum*, *E. lanceolatum*, *E. parviflorum* taksonlarının ITS verilerine göre düşük seç-bağla değeri (< %50) ile bir araya gelmişlerdir (Şekil 4-6). Bu durum stigmanın parçalı veya tam olması özelliğinin cinsine ait taksonlar arasında ayırıcı bir karakter olmadığını ortaya koymaktadır. Benzer şekilde ITS bölgesinin filogeni çalışmalarında özellikle cins ve üstü seviyelerde daha etkin sonuçlar verirken, taksonlar arasındaki ayırıcı yeterli veri sunmadığı fikrini destekler niteliktedir (Baldwin vd., 1995; Levin vd., 2004). Morfolojik özellikler açısından birbirlerine benzer oldukları bilinen (Chamberlain ve Raven, 1972) ve parçalı stigma ile karakterize edilen *E. lanceolatum* ve *E. montanum* taksonları ITS bölgesi analizi sonucu elde edilen filogenetik ağaçlarda da aynı gruplarda yer almışlardır. Bu durum morfolojik olarak benzer olan söz konusu taksonlar arasındaki moleküler benzerliğin de yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 4-6). Ancak *E. lanceolatum* ve *E. montanum* türlerinin ITS bölgesi

üzerinde sahip oldukları iki nükleotid pozisyonunun (Tablo 6; Ek 4, 180 ve 569) birbirinden farklı olması kısmen bu iki türün ayrılmasına katkı sağlamaktadır. Benzer şekilde bu iki tür incelenen palinolojik karakterler yönünden de benzer özelliklere sahiptir.

Morfolojik özellikler yönünden benzer olan *E. obscurum* ve *E. tetragonum* taksonları ITS verileri sonucu elde edilen ağaç topolojilerinde de birlikte gruplanmıştır (Şekil 4-6). Ancak *E. obscurum*'un bir nükleotid pozisyonu (Tablo 6; Ek 4, 183), *E. tetragonum*'un alttürlerinin de kendi içerisinde tek nükleotid pozisyonu (Tablo 6; Ek 4, 72) bulundurmaları ile birbirlerinden ayrıldıkları görülmektedir. Okur vd. (2015), yayımlanmamış tohum morfolojisi özellikleri bakımından *E. obscurum*'un ibik şeklinde papillaya sahip olması ile *E. tetragonum* taksonlarından ayrıldığını belirtmişlerdir (Şekil 4-6).

Morfolojik olarak benzer olan *E. algidum* ve *E. ponticum* taksonlarının ITS verileri sonucu çizilen filogenetik ağaç algoritmalarında hem bir arada hemde ayrı ayrı olarak kümelenerek politomi oluşturdukları görülmüştür. Benzer şekilde Stebbins, 1971 ve Baum vd. (1994), *Epilobium* cinsine ait taksonlarda poliploidinin mevcut olduğunu rapor etmişlerdir. Conti vd. (1993) ve Lorimer (2007), çalışmalarında *Epilobium* cinsine ait taksonlarda politominin görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu iki takson *E. tetragonum* subsp. *lamyi* ve *E. gemmascens* taksonları ile bir araya geldikleri belirlenmiştir. Köşeli gövdeye sahip *E. tetragonum* subsp. *lamyi* ile yaprak koltuklarında vejetatif sürgün bulduran *E. gemmascens* taksonlarının morfolojik özellikleri yönünden belirgin olarak ayrıldığı, *E. algidum* ve *E. ponticum* taksonları ile bir arada kümelenmesi moleküler veriler ile morfolojik veriler arasında bir korelasyon kuralamayacağı şeklinde yorumlanmıştır. Bu bağlamda, cins üzerinde önceden gerçekleştirilen moleküler çalışmalar dikkate alındığı zaman *Epilobium* taksonlarının ortak bir atadan gelen tetraploid özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Levin vd., 2004; Ford vd., 2007). Benzer şekilde Mertayak (2016), *E. algidum* taksonunun sklerankima hücrelerinin olmayışı, yaprakların hipostomatik özellik göstermesi ve mezokarp genişliğinin değişken oluşu gibi bazı anatomik karakterler yönünden diğer taksonlardan ayrıldığını belirtmiştir. Ayrıca *E. algidum*'un *E. prionophyllum* ile *E. ponticum*'un ise *E. roseum* taksonları ile bir araya geldiği görülmüştür. Aynı zamanda ITS verilerine dayalı olarak *E. roseum* subsp. *roseum*'un ve

E. roseum subsp. *consimile*'nin taksonlarının dört nükleotit pozisyonu (Tablo 6; Ek 4, 27, 180, 569 ve 190), *E. prinophyllum*'un ise iki nükleotit pozisyonu (Tablo 6; Ek 4, 120 ve 190) bakımından farklılıklar içerdiği görülmektedir. Levin vd. (2003, 2004) yaptıkları çalışmada ITS bölgesinin taksonların ayırımında yararlı olabileceğini ancak taksonomik bakımdan yeterli veri sunmadığını belirtmişlerdir. Mevcut bu çalışmamız bu görüşü destekler niteliktedir.

Morfolojik olarak farklı olan *E. confusum*, *E. frigidum* ve *E. roseum* subsp. *subsessile* taksonları ITS analizleri sonucu yüksek seç-bağla (%95) değeri ile bir araya gelmişlerdir (Şekil 4-6; C alt kolu). Bu kolda yer alan *E. confusum* ve *E. frigidum* taksonları ITS bölgesi üzerinde sahip oldukları iki nükleotit pozisyonu (Tablo 6; Ek 4, 569 ve 439) ile birbirlerinden ayrılmaktadır. ITS verileri ışığında oluşturulan filogenetik ağaç topolojisinde *E. algidum*, *E. anagallidifolium*, *E. palustre*, *E. prinophyllum* ve *E. roseum* subsp. *consimile* taksonları düşük seç-bağla değeri (>%50) ile aynı dalda gruplanmıştır. Ancak diğer parçalanmamış stigmali taksonların farklı dallarda ve arada parçalı stigmaya sahip taksonlar ile bulunması stigma yapısının kararlı bir özellik olmadığını ve moleküler veriler ile ilişkilendirilemeyeceğini ortaya koymaktadır. Bu grupta yer alan *E. anagallidifolium* ve *E. palustre* taksonları tam yaprak özelliği ile karakterize edilmektedir ve yüksek seç-bağla değeri ile (> % 50) bir araya gelmişlerdir (Şekil 5-7; D alt kolu). İki tür arasındaki morfolojik benzerlik ITS'e dayalı moleküler veriler tarafından da desteklenmektedir. Ancak söz konusu bu iki türün ayırımında yayımlanmamış tohum morfolojik özelliklerinin etkili olduğu görülmektedir. *E. anagallidifolium* periklinal çeper yüzeylerinin düzensiz çizgili (rugose) yapıda olması ile karakterize edilirken *E. palustre* buruşuk (ruminant) periklinal çeper süslemesine sahiptir.

ITS verileri ışığında çizilen filogenetik ağaç topolojilerinde *E. hirsutum* taksonunun incelenen diğer *Epilobium* taksonlarından % 77 değeri ile ayrıldığı görülmektedir (Şekil 4-6; A grubu). *E. hirsutum* morfolojik olarak oldukça büyük çiçeklere ve gövdede yoğun tüylere sahip olması ile diğer *Epilobium* taksonlarından ayrılmaktadır. Makbul vd. (2008) *E. hirsutum* türünün anatomik ve palinolojik olarak da diğer cins üyelerinden farklı özelliklere sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Mertayak (2016) çalışmasında *E. hirsutum*'un kambiyum ve peridermisin bulunmayışı, sklerankima liflerinin kümeler halinde, yapraklarının ise amfi stomatik özellik göstermesi ile diğer

taksonlardan ayrıldığını belirtmiştir. Bu durum morfolojik, palinolojik ve anatomik özellikleri farklı olan *E. hirsutum* türünün karakteristik bir genoma sahip olduğunu göstermektedir.

E. prionophyllum bazı araştırmacılar tarafından (Hauscknecht, 1884; Shteinberg, 1949) müstakil bir tür olarak ele alınırken birçok araştırmacı tarafından (Raven, 1964; Chamberlain ve Raven, 1972; Wagner vd., 2007) ise *E. anatolicum* taksonu altında alt tür seviyesinde değerlendirilmiştir. Ancak *E. prionophyllum* başta Rus Florası (Shtember, 1949) olmak üzere bazı çalışmalarda tür seviyesinde değerlendirilmektedir. Makbul vd. (2016) *E. prionophyllum* taksonunun gövde, yaprak, çiçek ve meyve tüylülüğü gibi bazı bitkisel özellikleri değerlendirerek bağımsız bir tür olarak ele alınması gerektiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Mertayak (2016), *E. prionophyllum*'un gövde, palizat parankiması sıra sayısı, perikarp özelliği ve stoma indeksi gibi anatomik karakterler yönünden farklar içerdiğini tespit etmiştir. Moleküler analizler değerlendirildiği zaman tam stigmaya sahip *E. anatolicum* ve *E. prionophyllum* taksonları ITS bölgesi verilerine göre elde edilen filogenetik ağaç topolojilerinde farklı kollarda yerleşmişlerdir (Şekil 4-6; C alt kolu). Bu durum morfolojik ve anatomik olarak farklı özelliklere sahip söz konusu iki taksonun moleküler bakımdan da farklı özellikler gösterdiğini ve bu nedenle de bağımsız iki tür olarak değerlendirilmesi gerektiği fikrini desteklemektedir.

Lorimer (2007) Yeni Zelanda'da yayılış gösteren *Epilobium* taksonlarının coğrafik yayılış gösterdikleri alanlarda birbirleri arasında gen transferleri olabileceğini ve bu durumun hem monofiletik hem de parafiletik gruplar oluşturabileceğini rapor etmiştir. Mevcut çalışmamızda ITS verileri ışığında oluşturulan ağaç topolojileri dikkate alındığı zaman *Epilobium* taksonlarının tek bir grup oluşturdukları görülmektedir. Bu bağlamda, çalışmamızın daha önce yapılmış olan çalışmalarda belirtildiği üzere *Epilobium*'un monofiletik grup olduğu ve değişmeden gelen atasal özelliklerini koruduğu fikrini desteklemektedir (Raven, 1976; Baum vd., 1994; Levin vd., 2003).

Bu çalışma ile ülkemizde yayılış gösteren 22 *Epilobium* ve 4 *Chamerion* taksonun nrDNA üzerinde yer alan ITS bölgesine dayalı olarak akrabalık ilişkileri ilk kez tespit edilmiştir. ITS bölgesinin analizi ile elde edilen moleküler veriler ışığında oluşturulan ağaç topolojilerine göre incelenen taksonlar arası filogenetik ilişkiler yorumlanarak

moleküler çalışmaların etkinliği ortaya konmuştur. Moleküler veriler Türkiye florasında seksiyon düzeyinde değerlendirilen ancak birçok çalışmada ise farklı bir cins olarak ele alınan *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarının ayırımında önemli katkılar sağladığı tespit edilmiştir. ITS bölgesinin analizinden elde edilen sonuçlar *Epilobium* cinsinin *Epilobium* ve *Chamerion* olarak iki ayrı cins şeklinde incelenmesi gerektiğini desteklemektedir. Ayrıca moleküler verilerin cins düzeyinde ve taksonlar arasındaki ayırımında yüksek oranda etkili olduğu görülmüştür.



5. ÖNERİLER

Bu tez kapsamında Türkiye’de yayılış gösteren 4 *Chamerion* ve 22 *Epilobium* taksonunun moleküler özellikleri sistematik yönden kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Moleküler çalışmalar, sistematik problemlerin çözümüne önemli katkılar sağlamasına rağmen çoğu zaman tek başına yeterli veri sunmamaktadır. ITS bölgesinin haricinde nrDNA üzerinde yer alan ETS ve IGS bölgeleri PZR uygulamaları ile çoğaltılıp RFLP analizi yapılarak elde edilen bant profillerine dayalı olarak taksonlarınlar arasında farklılık olup olmadığına bakılarak akrabalık ilişkileri tespit edilebilir. Ayrıca bütün bu çalışmalar yapılırken ülkemiz dışında yayılış gösteren *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarında kullanılması sistematik problemlerin çözümüne ve cinslerin filogenisinin aydınlatılmasına katkıda bulunabilir.

Kloroplast genomu üzerinde bulunan *trnT-L*, *trnL-F* intron baz profilleri belirlenerek taksonlar arasındaki filogenetik ilişkiler daha net bir şekilde tespit edilebilir. Aynı zamanda cpDNA’da yer alan *matK* genin baz dizin analizi yapılarak önemli bir varyasyonun bulunup bulunmayacağı araştırılabilir. Yine bu taksonların alloenzim analizleri yapılarak sistematik problemlerinin çözümüne yeni bir bakış açısı getirilebilir. Moleküler çalışmaların yanısıra ayrıntılı olarak sitolojik, tohum morfolojisi, anatomik ve palinolojik çalışmaların yapılması taksonomik problemlerin çözümüne daha fazla katkı sağlayabilecektir.

Kromozom sayısı bilinmeyen türlerin kromozom sayılarının belirlenmesi ile Türkiye’de yayılış gösteren *Chamerion* ve *Epilobium* taksonlarının karyolojik özellikleri tespit edilebilir. Aynı zamanda kromozom sayımı yapılan taksonların türler arası sistematik ilişkileri çözümlenmede etkin olan karyotip analizleri yapılarak kromozom haritaları tespit edilebilir.

Epilobium cinsine ait bazı türler sahip olduğu bitkisel özellikler yönünden dikkat çekmiş ve halk tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır. Cins üzerinde gerçekleştirilecek olan kimyasal uygulamaların taksonların etnobotaniksel özelliklerinin daha iyi anlaşılmasını ve halk arasında tedavi amaçlı kullanımının yangınlaşmasında etkin rol oynayarak tıbbi amaçlı bitkilerin ülke ekonomisine katkısı artırılabilir.

Gösterişli ve büyük çiçeklere sahip olan bazı taksonların süs bitkisi olarak kullanım oranı araştırılarak ekonomik değeri artırılabilir. Ayrıca son yıllarda bazı taksonların sistematik problemlerinin çözümünde tercih edilen kimyasal analizler ülkemiz taksonları içinde tespit edilebilir. Böylece endüstri ve ilaç sanayisinde kullanılarak ülke ekonomisine katkısı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- Abeş, G. G., 2007.** Batı Anadolu'da Yayılış Gösteren *Epilobium hirsutum* L. (Onagraceae)'un Morfometrik ve Ekolojik Özellikleri. Doktora Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 104 s., 89-90.
- Akbari, R. S. and Azizian, D., 2006.** Seed morphology and seed coat sculpturing of *Epilobium* L. Species (Onagraceae Juss.) from Iran. Turkish Journal of Botany, 30, 435-440.
- Alvarez, I. and Wenddel, J. F., 2003.** Ribozomal ITS sequences and plant phylogenetic inference, Mol. Phylogenet. Evol., 29 (3), 417-434.
- Avcı, M., 2005.** Çeşitlilik ve Endemizm Açısından Türkiye'nin Bitki Örtüsü, İstanbul Üniversitesi, Edebiyat Fakültesi, Coğrafya Bölümü, Coğrafya Dergisi 13, 27-55.
- Averett, J. E., Kerr, B. J. And Raven, P. H., 1978.** The flavonoids of Onagraceae, tribe Epilobieae: *Epilobium* sect. *Epilobium*. American Journal of Botany, 65 (5), 567-570.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M.J., Wojciechowski, M. F., Campell, C. S. and Donoghue, M. J., 1995.** The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. Annals of the Missouri Botanical Garden, 82 (2), 250-272.
- Baldwin, B. G. and Markos, S., 1998.** Phylogenetic utility of the external transcribed spacers (ETS) of 18S- 26S rDNA: congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 10 (3), 449-463.
- Baldwin, B. G. and Markos, S., 1999.** Phylogenetic utility of the external transcribed spacer (ETS) of 18S-26S rDNA. congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 10, 449-463.
- Baltacı, N. and Yüksekdağ, Z. N., 2014.** Organik Kirleticilerin Tuzcul Çevrelerde Biyodegradasyonu. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3 (2), 48-56.
- Barakat, H. H., Hussein, S. A. M., Marzouk, S., Linscheid, I. M. M. and Nawwar, M. A. M., 1997.** Polyphenolic metabolites of *Epilobium hirsutum*. Phytochemistry, 46 (5), 935-941.
- Başaran, E., 2010.** Türkiye'de yayılış gösteren bazı *Lecidea* liken türlerinin rDNA ITS bölgelerinin dizi analizi yöntemi ile tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 66s.,11-12.
- Başer, K. H. C., 1997.** Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İlaç Sanayisinde Kullanımı. İstanbul Ticaret Odası Yayın No: 39.

- Başer, K. H. C., 1998.** Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı. TAB Bülteni, 13-14, ss. 19-43.
- Battinelli, L., Tita, B., Evandri, M. G., Mazzanti, G., 2001.** Antimicrobial activity of *Epilobium* ssp. extracts. *Farmaco*, 56, 345-348.
- Baum, D. A., Sytsma, K. J., Hoch, P. C., 1994.** A Phylogenetic analysis of *Epilobium* (Onagraceae) based on nuclear ribosomal DNA sequences. *Systematic Botany*, 19 (3), 363-388.
- Baytop, T., 1999.** Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Geçmişte ve Bugün. İstanbul, Nobel Tıp Kitap evleri.
- Beer, R., 1905.** On the development of the pollen grain and anther of some Onagraceae. *Beih. Bot. Centralbl*, 19, 286-313.
- Berges, R. R., Windeler, J., Trampisch, H. J. and Senge, T. 1995.** Randomized placebocontrolled, double-blind clinical trial of betasitosterol in patient with benign prostatic Hyperplasia. Beta-Sitosterol Study Group. *Lancet*, 345, 1529-1532.
- Borris, R. P., 1996.** Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *Journal Of Ethnopharmacology*, 51(1-3), 29-38.
- Broderick, D. H., 1980.** The Establishment and Maintenance of Fireweed in Disturbed and Undisturbed Sites at Schefferville. MSc. Thesis, Department of Geography, McGill University, Montreal, Que. pp. 162.
- Broderick, D. H., 1990.** The biology of canadian weeds. 93. *Epilobium angustifolium* L. (Onagraceae). *Can. J. Plant Sci*, 70 (1), 217-259.
- Bult, C. J. and Zimmer, E. A., 1993.** Nuclear ribosomal RNA sequences for inferring tribal relationships within Onagraceae. *Systematic Botany*, 18 (1), 48-63.
- Burkill, H. M., 1997.** The useful plants of West Tropical Africa. Vol. 4. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 969.
- Bruns, T. D., Gardes, M., White, T. J., Fortin, J. A. and Taylor, J. W., 1991.** Fungal molecular systematic. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22, 525-564.
- Carlquist, S., 1977.** Wood Anatomy of Onagraceae: Additional Species and Concepts.
- Castro, J., Rodriguez, S., Pardo, B., G., Sanchez, L. and Martinez, P., 2001.** Population analysis of an unusual NOR-site polymorphism in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Heredity*, 86, 291-302.
- Chamberlain, D. F., Raven, P. H., 1972.** In: Davis PH [ed.] Flora of Turkey and The East Aegean Islands, vol. 4. Edinburgh University Press, Edinburgh, 4, 183-196.

- Chen, C. J., Hoch, P. C. and Raven, P. H., 1962.** Systematics of *Epilobium* (Onagraceae) in China. Systematic Botany Monographs, 34, 1-209.
- Christov, M., 1999.** Ways of production of new CMS source in sunflower. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 13(1), 25-32.
- Conti, E., Fischbach, A. and Sytsma K. J., 1993.** Tribal relationships in Onagraceae implications from *rbcL* sequence data. Annals of the Missouri Botanical Garden, 80 (3), 672-685.
- Coyne, J. A., 1982.** Gel elektroforesis and cryptic protein variation. Isozymes: Current Topics in Biological Medicine Research, 6, 1-32.
- Crespo, A., Bridge, P. D. and Hawksworth, D. L., 1997.** Amplification of fungal rDNA- ITS region from non fertile specimens of lichen-forming genus *Parmelia*. Lichenologist, 29, 275-282.
- Crisci, J. V., Zimmer, E. A., Hoch, P. C., Johnson, G. B., Mudd, C. and Pan, N., 1990.** Phylogenetic implications of ribosomal DNA restriction site variation in the plant family Onagraceae. Annals of the Missouri Botanical Garden, 77 (3), 523-538.
- Cronquist, A., 1968.** The evaluation and classification of flowering plants. Thomas Nelson & Sons Ltd., publication, yayın no: 19691601739, 396 s., 250-255.
- Çetiner, N. G., 2013.** Türkiye'deki *Lupinus* L. (Fabaceae) Türlerinin Moleküler Sistematik Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, Türkiye, 72 s., 23-28.
- Çulcu, T., 2015.** The Effects Of Folk Medicinal Plants *Viscum album* L. and *Epilobium hirsutum* L. on Protein and mRNA Expressions of Rat Liver Bile Acid Synthesizing Cyps. Doktora Tezi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Üniversitesi, Ankara, Türkiye. 172 s., 33-34.
- Dağcı, E. K. ve Dığrak, M., 2005.** Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8 (2), 1-7.
- Davis, P. H., 1965.** Flora of Turkey. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University publication, yayın no: 19661602967, 567 s., Davis, P. H. (Ç. Ed.), 340-342.
- Degreef, J., Fischer, E., Sharp, C. and Raspe, O., 2009.** African *Morchella crassipes* (Ascomycota, Pezizales) revealed by analysis of nrDNA ITS. Nova Hedwigia, 88, 11-22.
- Delforge, P., 2006.** Orchids of Britain and Europe. Harper Collins publication, London, ISBN: 90-272-4788-9, 274 s., Randall, S. G. and Deborah, A. (Ç. Ed.), 19-53.

- Doyle, J. J. and Doyle, J. L., 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Ebrahimnezhad, N., 2014.** Evaluation of Cu in soil and number of plant species around a Sarcheshmeh copper deposit in Kerman province. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 5 (1), 521-525.
- Edel, V., 1998.** *Polymerase Chain Reaction in Mycology*. CABI publishing, ISBN: 0-85199-233-1, 357 s., Bridge, P. D. (Ç. Ed), 1-20.
- Eghmazi, E., Akhgar, M. R. and Kariminik, A., 2015.** Oil from *Epilobium hirsutum*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 7 (1), 338-344.
- Ekim, T., 1975.** New floristic records from central Turkey (Eskişehir). *Notes Roy Bot. Gard. Edinburgh*, 34 (1), 205-216.
- Elkington, T. T., 1984.** Cytogenetic variation in the British flora: Origins and significance. *New Phytologist*, 98(1), 101-118.
- Eminağaoğlu, Ö., Kutbay, H. G., Bilgin, A. and Yalçın, E., 2006.** Contribution to the phytosociology and conservation of tertiary relict species in northeastern Anatolia (Turkey). *Belgian Journal of Botany*, 139 (1), 124-130.
- Felsenstein, J., 1985.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Fischer, H., 1890.** Beiträge Zur Vergleichenden Morphologie der Pöllenkörner. J. U. Kern's Verlag, Breslau. *Recueil Destravaux Botaniques Neerlandais*, 27 (1), 1-84.
- Ford, V. S. and Gottlieb, L. D., 2007.** Tribal relationships within Onagraceae inferred from PgiC sequences. *Systematic Botany*, 32, 348–356.
- Gardes, M. and Bruns, T. D., 1993.** ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2, 113-118.
- Gernandt, D. S. and Liston, A., 1999.** Internal transcribed spacer region evolution in *Larix* and *Pseudotsuga* (Pinaceae). *American Journal Botany*, 86, 711-723.
- Ghaffari, S. M. and Kelich, K., 2006.** New or rare chromosome counts of some angiosperm species from Iran II. *Iran Journal of Botany*, 11, 81-86.
- Goel, S., Raina, S. N. and Ogihara, Y., 2002.** Molecular evolution and phylogenetic ITS sequences of nuclear ribosomal DNA in the phaseolus vigna complex. *Molecular Biology Evolution*, 22 (1), 1-19.
- Grube, M., Depriest, P., Gargas, A. and Hafellner, J., 1995.** DNA isolation from lichen ascomata. *Mycological Research*, 99 (11), 1321-1324.

- Grube, M. and Kroken, S., 2000.** Molecular Approaches and The concept of species and species complexes in lichenized fungi. *Mycol. Res.*, 104 (11), 1284-1294.
- Gültepe, M., 2014.** Türkiye *Tragopogon* L. (Asteraceae) taksonlarının biyosistematik yönden incelenmesi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 224 s., 22-25.
- Güner, A. ve Yıldız, B., 1993.** New records from Turkey. *Notes Roy Botanical Garden Edinburgh*, 40 (3), 521-530.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T., 2012.** Türkiye Bitkileri Listesi, Damarlı Bitkiler. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul.
- Hall, T., A., 1999.** BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editör and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Research*, 41, 95-98.
- Haussknecht, C., 1884.** Monographie der Gattung *Epilobium*. Jena. viii, 318 s., 23.
- Henderson, G., Holland, P. G. and Werren, G. L., 1979.** The natural history of a Subarctic adventive: *Epilobium angustifolium* L. (Onagraceae) at Schefferville. *Quebec. Nat. Can*, 106, 125-137.
- Hershkovitz, M. A. and Lewis, L. A., 1996.** Deep level diagnostic value of the rDNA ITS region. *Molec. Biol. Evolution*, 13, 1276-1295.
- Hiermann, A., Juan, H., Sametz, W., 1986.** Influence of *Epilobium* extracts on prostaglandin biosynthesis and carrageenin induced oedema of the rat paw. *J. Ethnopharmacol.*, 17, 161-169.
- Hillis, D. M., Moritz, C. and Mable, B. K., 1996.** Proteins. *Molecular Systematics Massachusetts: USA: Sunderland*, ISBN: 0-87893-282-8, 120 s., David, M. H., Craig, M. and Barbara, K. M. (Ç. Ed.), 51-55.
- Hoch, P. C., J. V. Crisci, H. T. and Berry, P. E., 1993.** A cladistic analysis of the plant family Onagraceae. *Systematic Botany*, 18, 31-47.
- Hoggard, G. D., Kores, P. J., Molvray, M., Hoggard, R. K., 2004.** The phylogeny of *Gaura* (Onagraceae) based on ITS, ETS, and trnL-F Sequence data. *American Journal of Botany*, 91, 139-148.
- Holub, J., 1972.** Taxonomic and nomenclatural remarks on *Chamaenerion* auct. *FoliaGeobotanica*, 7 (1), 81-90.
- Hughes, C., E., Eastwood, R., J. and Bailey, C., D., 2006.** From famine to feast? Selecting nuclear DNA sequence loci for plant species-level phylogeny reconstruction, *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 361, 211-225.

- Husband, B. C. and Schemske, D. W., (1998).** Cytotypedistribution at a diploid-tetraploidcontactzone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (Onagraceae). American Journal of Botany, 85(12), 1688-1694.
- Hwang, M.Y., Yu, H.S., Kim, T.O., Yun, H.C., Kim, T.H., Kong, H. H. and Chung, D., 1999.** Phylogenetic relationships among acanthamoeba ssp. based on PCR-RFLP analyses of mitochondrial small subunit rRNA gene. The Korean Society for Parasitology, 37 (3), 181-188.
- Ivanova, N. V., DePriest, P.T., Bobrovas, V. K. and Troitskys, V. A. 1999.** Phylogenetic analysis of the Lichen family Umbilicarieaceae based on nuclear ITS1 and ITS2 r DNA sequences. Lichenologist, 31, 477-489.
- Karakurt, S., Semiz, A., Çelik, G., Gençler-Özkan, A. M., Sen, A. ve Adalı, O., 2016.** Contribution of ellagic acid on the antioxidant potential of medicinal plant *Epilobium hirsutum*. Nutrition and cancer, 68 (1), 173-183.
- Kaynak, G. ve Ketenoğlu, O., 1986.** New floristic records from Urfa and Diyarbakır provinces, SE Turkey. Willdenowia, 16, 79-86.
- Keating, R., 1982.** The evolution and systematics of Onagraceae: Leaf anatomy. Ann. Missouri Bot. Garden, 69, 770–803.
- Kılıçoğlu, M., Özkoç, İ., 2008.** Fungal sistematiikteki moleküler gelişmeler. OMÜ Zir. Fak.Dergisi, 23 (1), 65-72.
- Klug, W. S. and Cummings, R. M., 2000.** Genetik. Palme yayıncılık, 900 s., Öner, C. (Ç. Ed.), 816 s.
- Klug, W. S. and Cummings, R. M., 2002.** Genetik. Palme yayıncılık, 500 s., Öner, C. (Ç. Ed.), 381-383.
- Krajsek, S. S., Dermastia, M., Jogan, N., 2006.** Determination key for Central European *Epilobium* species based on trichome morphology. Bot. Helv., 116, 169-178.
- Krajsek, S. S., Kreft, S., Kladnik, A., Draslar, K., Jogan, N. and Dermastia, M., 2011.** Morphology and grandular activity of unicellular trichomes of *Epilobium hirsutum*. Biologia Plantarum, 55(1), 149-152.
- Krakos, K. N., Reece, J. S. and Raven, P. H., 2014.** Molecular phylogenetics and reproductive biology of *Oenothera* section *Kneiffia* (Onagraceae). Systematic Botany, 39 (2), 523-532.
- Kujawski, W., Ozarowski, M., Derebecka-Holysz, A., Bartkowiak-Wieczorek, A., Bogacz, A., Karasiewicz, M. and Mrozikiewicz, M., 2009.** Effect of willow herb (*Epilobium angustifolium* L.) extract on gene expression of selected P450 cytochromes in rat liver-preliminary study. HerbaPolonica, 55 (4), 52-63.

- Kullman, L., 2010.** Alpine flora dynamics—a critical review of responses to climate change in the Swedish Scandes since the early 1950s. *Nordic Journal of Botany*, 28 (4), 398-408.
- Kumar, P. and Singhal, V. K., 2011.** Chromosome number, male meiosis and pollen fertility in selected angiosperms of the cold deserts of Lahaul-Spiti and adjoining areas (Himachal Pradesh, India) *Plant Syst. Evolution*, 297, 271–297.
- Kundakçı, S., Makbul, S., Coşkunçelebi, K. and Okur, S., 2016.** Ülkemiz *Chamaenerion (Epilobium-Onagraceae)* Seksiyonu Taksonlarının Tüy Özellikleri. 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, Gaziantep, Türkiye, 5-9 Eylül 2016, ss. 294-294.
- Kurabayashi, M., Lewis, H. and Raven, P.H., 1962.** A comparative study of mitosis in the Onagraceae. *Amer. J. Botany*, 9, 1003–1026.
- Lee, S. B. and Taylor, J. W., 1992.** Phylogeny of five funguslike protocistan *Phytophthora* species, inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 9, 636-653.
- Levin, R. A., Wagner, W. L., Hoch, P. C., Nepokroeff, M., Pires, J. C., Zimmer, E. A. and Sytsma, K. J., 2003.** Family level relationships of Onagraceae based on chloroplast *rbcL* and *ndhF* data. *American Journal of Botany*, 90 (1), 107-115.
- Levin, R. A., Wagner, W. L., Hoch, P. C., Hahn, W. J., Rodriguez, A., Baum, D. A., Katinas, L., Zimmer, E. A., Sytsma, K. J., 2004.** Paraphyly in tribe Onagreae: insights into phylogenetic relationships of Onagraceae based on nuclear and chloroplast sequence data. *Syst. Botany*, 29, 147–164.
- Liu, J. S. and Scharal, C. L., 1994.** A conserved sequence in the internal transcribed spacer 1 of plant nuclear r RNA genes, *Plant Molecular Biology*, 26, 775-778.
- Lorimer, N. G., 2007.** Phylogenetic Reconstruction and Gene tree Incongruence in New Zealand *Epilobium* L. (Onagraceae). *Yüksek Lisans Tezi. Auckland Üniversitesi, Yeni Zelanda*, 117 s., 1, 28-30.
- Mabberley, D. J., 1997.** The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, ISBN: 0-521-41421-0, 809 s., Mabberley, D. J. (Ç. Ed.), 771-783.
- Maheshwari, P., 1950.** An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill, New York. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH publishing, ISBN: 978-3-642-76397-7, 215 s., Johri, B. M., Ambegaokar, K. B. and Srivastava, P. S. (Ç. Ed.), 129-192.
- Makbul, S., Türkmen, Z., Coşkunçelebi, K., Beyazoğlu, O., 2008.** Anatomical and pollen characters in the genus *Epilobium* L. (Onagraceae) from northeast Anatolia.

- Makbul, S., Coşkunçelebi, K., Okur, S. 2015.** Taxonomical Contributions to Turkish *Epilobium* L. (Onagraceae) Taxa based on trichome features. 6th Balkan Botanical Congress, Rijeka, Hırvatistan, 14-18 Eylül, 88-88.
- Makbul, S., Coşkunçelebi, K., Okur, S., Gültepe, M., 2016.** Contribution to the taxonomy of Turkish *Scorzonera* (Asteraceae) taxa based on vegetative anatomy. Nordic Journal of Botany, 34, 670-684.
- Malyshev, S., 1997.** Molecular markers in mapping plant genome. Molecular Biology, 31(2), 163.
- Martin, P. G., Dowd, J. M., 1986.** Phylogenetic studies using protein sequences within the order Myrtales. Annals of the Missouri Botanical Garden, 73, 442-448.
- Mateos, M. and Markow, T., A., 2005.** Ribozomal intergenic spacer (IGS) length variation across the Drosophilinae (Diptera: Drosophilidae). BMC Evolutionary Biology, 5, 1-14.
- Meikle, R. D., 1977–1985.** Flora of Cyprus, The Bentham-Moxon Trust Royal Botanic Gardens. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK publishing, vol. 1- 2, Kew, ISBN: 2-8317-0328-X, 865 s., 520-630.
- Melchior, H., 1972.** Hager's Handbuch der pharmazeutischen Praxis. Springer- Verlag, Berlin, 832-833.
- Mertayak, F., 2016.** Ülkemizdeki *Epilobium* (Onagraceae) Taksonlarının Anatomik Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 104 s., 82-83.
- Metcalf, C. R., Chalk, L., 1950.** Anatomy of Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press. Second, completely revised edition Springer, ISBN: 3-540-41173-9, 457 s., Carlquist, S. (Ç. Ed.), 150-155.
- Michaelis, P., 1950.** Grundzüge der intraindividuellen Plasmon-Umkombination Basic characteristics of intraindividual plasmon re combination. Protoplasma, 39,74-260.
- Michaelis, P., 1954.** Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. Advances in Genetics, 6, 287-401.
- Michaelis, P., 1966.** The proof of cytoplasmic inheritance in *Epilobium* (a historical survey as an example for the necessary proceeding). Nucleus, 9, 1–16.
- Mort, M. E. and Crawford, D. J., 2004.** The continuing search: low copy nuclear sequences for lower- level plant molecular phylogenetic studies. Taxon, 53 (2), 257-261.

- Mosquin, T., 1966.** Towards a more useful taxonomy for chromosomal races *Brittonia*, 18 (3), 203-214.
- Mosquin, T., 1967.** Evidence for autopolyploidy in *Epilobium angustifolium* (Onagraceae). *Evolution*, 21 (4), 713-719.
- Mosquin, T. and Small, E., 1971.** An example of parallel evolution in *Epilobium* (Onagraceae). *Evolution*, 25 (4), 678-682.
- Muir, G. and Schlotterer, C., 1999.** Limitations to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations – a case study in *Quercus petraea* (Matt.). Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft publication, yayın no: 20023077770, 198 s., 87-93.
- Mund, M. D., Alam, S., Khan, U. H., Tahir, U., Zubair, M. S., Younas, T. and Mustafa, B. E., 2016.** Phytochemicals as complementary and alternative therapeutic formulations with potential pro-apoptotic effects on various cancerous cell lines: A literature survey. *Focus on Sciences*, 2(2), 1-12.
- Munz, P.A., 1965.** Onagraceae. North. American. Flora, 2(5), 1-278.
- Nieto-Feliner, G. and Rossello, J., A., 2007.** Better the devil you know? Guidelines for insightful utilization of nr DNA ITS in species-level evolutionary studies in plants, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44 (2), 911-919.
- Ogundipe, O. T., Chase M., 2008.** Phylogenetic analyses of Amaranthaceae based on *matK* DNA sequence data with emphasis on West African species. *Turkish Journal of Botany*, 33, 153-161.
- Okur, S., Makbul, S., Coşkunçelebi, K., Gültepe, M., 2015.** Mikromorfolojik Karakterlerin *Epilobium* (Onagraceae) Cinsinde Seksiyon Düzeyinde Önemi. 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi, Bolu, 2-4 Eylül, 51-51.
- Okur, S., Coşkunçelebi, K., Makbul, S., Güven, S., 2016.** Fruit Characteristics of Turkish *Epilobium* L. (Onagraceae) taxa. SEAB Symposium on Euroasian Biodiversity, Antalya, Türkiye, 23-27 Mayıs 2016, pp. 258-258.
- Onar, H. Ç., Yusufoglu, A., Türker, G. ve Yanardağ, R., 2012.** Elastase, tyrosinase and lipooxygenase inhibition and antioxidant activity of an aqueous extract from *Epilobium angustifolium* L. leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (5), 716-726, DOI: 10.5897/JMPR11.1127.
- Özat, A., 2010.** Bazı *Scorzonera* L. (Asteraceae) Taksonlarının nrDNA ITS bölgelerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 65 s., 3-4.
- Patel V. C., Skvarla J. J., Raven P. H., 1984.** Pollen characters in relation to the delimitation of Myrtales. *Annals Missouri Botanical Garden*, 71, 858-96.

- Perveen, A., Qaiser, M., 2013.** Pollen Flora of Pakistan–LXXI. Onagraceae. Pakistan Journal of Botany, 45 (1), 241-245.
- Pignatti, S., 1982.** Flora d'Italia. Bologna: Edagricole publication, yayın no: 1901745, ISBN: 88-206-231-02, 790 s., 732.
- Punt, W., Rovers, J., Hoen, P. P., 2003.** The Northwest European pollen flora, Onagraceae, 67. review of Palaeobotany and Palynology, 123, 107-161.
- Ramesh, P., Piyush, G., Mohd, T. ve Sanjay, K., 2012.** Herbal plants used for immunomodulatory action: a review. International Journal of Research in Pharmacy and Science, 2 (3), 14-26.
- Raven, P. H., 1962.** The systematics of *Oenothera* subgenus *Chylismia*. University California Publishing Botany, 34, 1-122.
- Raven, P. H., 1964.** The generic subdivision of Onagraceae, tribe Onagreae. Brittonia, 16 (3), 276-288.
- Raven, P. H., 1976.** Generic and sectional delimitation in Onagraceae, tribe Epilobieae. Annals Missouri Botanical Garden, 63, 326-340.
- Raven, P. H., 1988.** Onagraceae as a model of plant evolution. Springer Netherlands publication, ISBN: 978-94-010-7036-2, 107 s., Gottlieb L. D. and Jain S. K. (Ç.Ed.), 85-107.
- Raimann, R., 1893.** Hydrocaryaceae, in Engler-Prantl, Dienat. Pflanzenfam., III. Teil, 7, 223-226.
- Roman, I., Rusu, M. A., Puică, C. and Borșa, M., 2010.** Citotoxic effects of three species of *Epilobium* (Onagraceae) herbal extracts in rats. Studia Universitatis, Vasile Goldis, Seria Stiintele Vietii, 20 (1), 9-23.
- Samuelsson, G., 1923.** Revision der Siidamerikanischen *Epilobium*-arten. Svensk Bot. Tidskr. 17, 241-295.
- Samuelsson, G., 1930.** Zur *Epilobium*-Flora sudamerikas. Svensk Bot. Tidskr., 24, 1-11.
- Saiki, R. K., Stoffel, S., Scharf, S. J., Hiquchi, R., Horm, G.T., Mullis, K. B., and Erlich, H. A., 1998.** Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 239, 487-491.
- Salisbury, R. A., 1807.** XIV. The characters of several genera in the natural order of coniferae: with remarks on their stigmata and cotyledons. Transactions of the Linnean Society of London, 8 (1), 308-317.
- Sayik, A., 2007.** Yakı otu (*Epilobium angustifolium*) Bitkisinin Kimyasal Yapısının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,

İstanbul. Türkiye, 112 s., 106-107.

Saxen, B., 2011. Scanning electron microscopy of the surface structure of seeds from the genus *Epilobium* in Fennoscandia for determining the species Memoranda Societatis pro Fauna and Flora Fennica, 87, 29-40.

Schmitz, U. K., 1988. Molecular analysis of mitochondrial DNA and its inheritance in *Epilobium*. Curr. Geneal, 13, 411-415.

Seavey, S. R., Raven, P. H., 1977. Chromosomal evolution in *Epilobium* sect. *Epilobium* (Onagraceae). Plant Systematics and Evolution, 127, 107-119.

Shamsi, S. R. A., Whitehead, F. H., 1974. Comparative eco-physiology *Epilobium hirsutum* L. and *Lythrum salicaria* L. growth and development in relation to light. Journal of Ecology, 62 (2), 631-645.

Sheikh, N. A., Desai, T. R., Patel, R. D., 2016. Pharmacognostic evaluation of *Epilobium hirsutum* Linn. Pharmacogn. J. A multifaceted peer reviewed journal in the field of Pharmacognosy and Natural Products, 8 (3), 226-229.

Shikov, A. N., Poltanov, E. A., Dorman, H. D., Makarov, V. G., Tikhonov, V. P. and Hiltunen, R., 2006. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of commercial water-soluble willow herb (*Epilobium angustifolium* L.) extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54 (10), 3617-3624.

Shtember, E. L., 1949. Onagraceae. Flora of the USSR, Nauko, Moscow. BK Shishkin publication, 750 s., 425-472.

Simpson, M., 2011. Plant Systematics, Elsevier academic press.

Skvarla J. J. Rowley J. R., Hoch P. C., Chissoe W. F., 2008. Unique tetrads of *Epilobium luteum* (Onagraceae: Onagreae) pollen from Alaska. Brittonia, 60, 398-404.

Small, R. L. Cronn, R. C. and Wendel, J. F., 2004. L. A. S. Johnson Review No. 2: Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants. Australian Systematic Botany, 17, 145-170.

Sneath, P., H. A. and Sokal, R., R., 1973. Numerical taxonomy the principles and practice of numerical classification. San Francisco, W. H. Freeman and Company publication, yayın no: 19730310919, ISBN: 0-716-70697-0, 573 s., 120-125.

Snogerup, S., Jonsell, B. and Karlsson, T., 2010. *Epilobium* L. Flora Nordica, 6, 91-131.

Solomon J. C., 1982. The systematics and evolution of *Epilobium* (Onagraceae) in South America. Annals Missouri Botanical Garden, 69, 239-335.

- Stace, C. A., 2000.** Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. *Taxon*, 451-477.
- Stajner, D., Popovic, B. M., Boza, P., 2007.** Evaluation of willow herb's (*E. angustifolium* L.) antioxidant and radical scavenging capacities. *Phytother. Res.*, 21, 1242-1245.
- Stajner, D., Popovic, B., M., Canadanovic-Brunet, J., Boza, P., 2006.** Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruska gora mountain. *Fitoterapia*, 77, 601-604.
- Stebbins, G. L., 1971.** Chromosome evolution in higher plants. Edward Annold Ltd., London publication, yayın no: 19711606614, 216 s., 96-98.
- Steven, B. L. and John, W. T., 1992.** Phylogeny of five fungus-like protocistan *Phytophthora* species, inferre from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 9 (4), 636-653.
- Strid, A., 1986.** Mountain flora of Greece. CUP Archive publication, yayın no: 847772, ISBN: 0-521-25737-9, 821s., Strid, A. (Ç. Ed.), 234-341.
- Sytsma, K. J., Smith, J. F. and Hoch, P. C., 1991.** A chloroplast DNA analysis of tribaland generic relationships within Onagraceae. *American Journal of Botany*, 78, 222 (Abstract).
- Sytsma, K. J. and Smith, J. F., 1992.** Molecular systematic of Onagraceae: examples from Clarkia and Fuchsia. *Molecular systematic of plants*, Chapman and Hall, New York, New York, USA, 750 s., Soltis, P. S., Soltis, D. E. and Doyle, J. J. (Ç. Ed.), 295-323.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. ve Kumar, S., 2011.** MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maksimum Likelihood, Evaluatory Distance, and Maksimum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28 (10), 2731-2739.
- Tan, A., 1992.** Türkiye'de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. *Anadolu J. of AARI*, 2, 50-64.
- Tan, A., 1998.** Current Status of Plant Genetic Resources Conservation in Turkey. *International Symposium on In situ Conservation of Plant genetic Diversity*. Central Research Institute for Field Crops, 250 s., Zencirci, N., Kaya, Z., Anikster, Y. and Adams, W. T. (Ç. Ed.), 5-16.
- Taşkın, H., 2011.** Türkiye Florasında Yetişen Kuzu Göbeği Mantarlarının Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. Türkiye, 149 s., 7-8.
- Taylor, J. W., Jacobson, D. J., Kroken, S., Kasuga, T., Geiser, D. M., Hibbett, D. S.**

- and Fisher, M. C., 2000.** Phylogenetic species recognition and species concept in fungi. *Fungal Genetic and Biology*, 31, 21-32.
- Thell, A. and Miao, V., 1999.** Phylogenetic analysis of ITS and intron sequences from European and American samples of cetrarioid lichens. *Annales Botanicae Fennici*, 35, 275-286.
- Toth, B. H., Blazics, B. and Kery, A., 2009.** Polyphenol composition and antioxidant capacity of *Epilobium* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49 (1), 26-31.
- Vitalone, A., McColl, J., Thome, D., Costac, L. G., Tita, B., 2003a.** Characterization of the effect of *Epilobium* extracts on human cell proliferation. *Pharmacology*, 69, 79-87.
- Vitalone, A., Guizzetti, M., Costa, L.G., Tita, B., 2003b.** Extracts of various species of *Epilobium* inhibit proliferation of human prostate cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 55, 683-690.
- Wagner, W. L., Hoch, P. C., Raven, P. H. 2007.** Revised classification of the Onagraceae. *Systematic Botany Monographs*, 83, 1-193.
- White, T., J., Bruns, T., Lee, S. ve Taylor, J., 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, 450 s., Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J., White, T. (Ç. Ed.), 315-322.
- Wilt, T.J., Mac Donald, R., Ishani, A., 1999.** Beta-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *BJU International*, 83, 976-983.

EKLER

Ek 1. *Chamerion* Taksonlarının nrDNA ITS Baz Profilleri

1. *C. angustifolium* (Okur-38& S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTTAATAACCAATTGG
GAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTCCGCTTGTCTTGGGTAGC
CCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAATGTGCC
AAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGCTACCCCCGTTTCGCGGGGTG
TCTCGGGATCAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGCA
ACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGC
GCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATT
CGTCACCCAACCTCCGCTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAATCGAGCATCGGA
TTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTTG
CCCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATATCGAT

2. *C. angustifolium* var. *karsianum* (Okur-589 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTTAATAACCAATTGG
GAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTCCGCTTGTCTTGGGTAGC
CCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAATGTGCC
AAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGCTACCCCCGTTTCGCGGGGTG
TCTCGGGATCAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGCA
ACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGC
GCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATT
CGTCACCCAACCTCCGCTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAATCGAGCATCGGA
TTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTTG
CCCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATATCGAT

3. *C. bordzilovskyi* (Okur-590 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTTAATAACCAATTGG
GAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTCCGCTTGTCTTGGGTAGC
CCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAATGTGCC

AAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGCTACCCCCGTTTCGCGGGGTG
TCTCGGGATTAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGCA
ACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGC
GCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATT
CGTCACCCAACCTCCACTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGCGCGGGTGGCCTAAAATCGAGCATCGG
ATTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTT
GCCCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATCGGAT
GCGACCCCCAGGTCAGGCGGGGGCCACCCCGCTGAAT

4. *C. colchicum* (Okur-42 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGGAGAACCGGTTAATAACCAATTG
GGAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTCCGCTTGTCTTGGGTAG
CCCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAATGTGC
CAAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGCTACCCCCGTTTCGCGGGGT
GTCTCGGGATCAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGC
AACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATAC
TTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTG
CGCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTAT
TCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGTGCGGCTGGCCTAAAATTGAGCATCGGAT
TGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTTGC
CCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATCGAT

5. *C. dodonaei* (Okur-47 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTTAATAACCAATTGG
GAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTTTCGCTTGTCTTGGGTAGC
CCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAACGTGCC
AAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGATACCCCCGTTTCGCGGGGTG

TCTCGGGATCAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGCA
ACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGC
GCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATT
CGTCACCCAACCTCCGCTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGTGCGGCTGGCCTAAAATCGAGCATCGGAT
TGATGATCTTCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTTGC
CCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATCGAT

6. *C. stevenii* (Okur-72 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCACAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTTAATAACCAATTGG
GAGAATGGGGGCATGCCCCCTGTGCTCCCGAATTCCGCTTGTCTTGGGTAGC
CCATCGGGTCCAAGTCTTCGGAAAGTAACGAAACCCGGCACGGAATGTGCC
AAGGAACCTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCCTGCTACCCCCGTTTCGCGGGGTG
TCTCGGGATTAACGCGCCATCTTTTCTATCAATATCGAAACGACTCTCGGCA
ACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACT
TGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGC
GCCCTAAGCCATTCGGCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATT
CGTCACCCAACCTCCACTCCCCATTAAGGAGCTCGGGTCTTGGGTACGGAA
GTTGGCCTCCCGTGGTCTTGAAGCGCGGGTGGCCTAAAATCGAGCATCGG
ATTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTAATTCTTACCTCGTGATGTT
GCCCCGGAGCCACTTCCATATGGAGCTCCACGACCCTAGATATATATCGGAT
GCGACCCCCAGGTCAGGCGGGGGCCACCCCGCTGAAT

Ek 2. *Epilobium* Taksonlarının nrDNA ITS Baz Profilleri

1. *E. algidum* (Okur-4 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGTGTGGGTAG

CCCCACCGGGTCCACAGCACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGTCACCCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCATTGCGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

2. *E. alpestre* (Okur-90 & S. Makbul)

GTAAACAACCAGTTGGGAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAAACCC
CGCTTGCTGTGGGTAGCCCCACCGGGTCCACAGCACGCGGGCATCAACGAA
ACCCGGCACGGAACGTGCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCG
GCACCCCCGTTTCGCGGGGTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAAT
ATCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAA
CGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCG
AGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCTAAGCATTGCGCCGAGGGCACGTCTGC
CTGGGCGTCAATCATCTATTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGC
TTTGGTCCCGGGTACGGAAGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGC
CTAAAACTGAGCATCGGACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTCA
TTCCTACCTCGTGACGTTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGAC
CCTAGATTTACTATCGAT

3. *E. anagallidifolium* (Okur-121 & S. Makbul)

CAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGGGAGACGGGGGCATCGCCCCTT
GCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAGCCCCACCGGGTCCACAACACG

CGGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAAACGTGCCAAGGAACTTGAATAAG
AGAAGCGCAGTCTCGTCACCCCGTTCGCGGGGTGTGTCGTGATCAAGCGC
AATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCT
CGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAA
TCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCTAAGCCATTTGGC
CGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATTCGTCACCCAACCTCCGC
TCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGAAGTTGGCCTCCCGTGCTCT
TGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGGACTGATGATCTCCGAGGCA
CGCGGTGGTTGTTTATTCTACCTCGTGACGTTGCCAAGGAGCGTCTCCCGT
GCGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGATG

4. *E. anaticum* (Okur-343 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

5. *E. confusum* (Okur-25 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAGCACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACCTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGATGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

6. *E. frigidum* (Okur-208 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTGGCGCTCACAAAGCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCTGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGCAGCGCGGCTGGCCTAAAACCTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

7. *E. gemmascens* (Okur-407 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

8. *E. hirsutum* (Okur-22 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAAGCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAGCACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCGGTCCCGGCAGCCCGTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCTGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

9. *E. lanceolatum* (Okur-247 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGTGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCGTCGCCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCTGATCAAGCGCAATCTTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCG
GCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT
ACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGT
TGCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCT
ATTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCTGAAAAGGAGCAATTGGTCCCGGGTAC
GGAAGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCAT
CGGACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTATTCTTACCTCGTGAT
GTTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATC
GAT

10. *E. minitiflorum* (Okur-31 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAATGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCTGCGATCAAGCGCAATCTTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGCACGG
AAGTTGGCCTCCCGTTCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTATTCTTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

11. *E. montanum* (Okur-170 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCTCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAAATATCATAACGACTCTCG
GCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT
ACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGT
TGCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCT
ATTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCAATTGGTCCCGGGTAC
GGAAGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACCTGAGCAT
CGGACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTATTCTTACCTCGTGAT
GTTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATC
GAT

12. *E. obscurum* (Okur-158 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCCTCACAAACCCCGCTTGTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAAATCGAATAAGAGAAGCGCGGCCTCGGCGCCCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGG
AAGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACCTGAGCATCG
GACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTATTCTTACCTCGTGACGT

TGCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGGAGCTCCACGACCCTAGATTTAACTATCG
ATGCGACCCCAGTCCAGGGCGGCCACCACGGTCT

13. *E. palustre* (Okur-433 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAAC
GTGCCAAGGAACTTGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGTCACCCCGTTCGCG
GGGTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTC
GGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGA
TACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAG
TTGCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATC
TATTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACG
GAAGTTGGCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACCTGAGCATC
GGACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACG
TTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTGCGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCG
AT

14. *E. parviflorum* (Okur-330 & S. Makbul)

CAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGGGAGACGGGGGCATCGCCCCTT
GCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAGCCCCACCGGGTCCGCAACACG
CGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGTGCCAAGGAACTCGAATAAGA
GAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTCGCGGGGTGTGTCGTGATCAAGCGCA
ATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTC
GCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAAT
CCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCTAAGCCATTTGGCC
GAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTATTCGTCACCCAACCTCCGCT
CCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGAAGTTGGCCTCCCGTGCTCTT

GAAGCGCGGCTGGCCTAAAAGTGGAGCATCGGACTGATGATCTCCGAGGCAC
GCGGTGGTTGTTTCATTCTCCCTCGTGACGTTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTA
CGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

15. *E. ponticum* (Okur-178 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGGCGCTCACAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAAGTGGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

16. *E. prinophyllum* (Okur-377 & S.Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGGCGCTCACAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCACCGGGTCCACAGCACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGTCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA

TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCC GGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTCAATCCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

17. *E. roseum* subsp. *roseum* (Okur-252 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCTGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTA
GCCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAAC
GTGCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGTGCAGTCTCGGCACCCCGTTTCGCG
GGGTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTC
GGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGA
TACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAG
TTGCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATC
TATTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCTGAAAAGGAGCTTTGGTCCC GGGTACG
GAAGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATC
GGACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTCAATCCTACCTCGTGATG
TTGCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCG
AT

18. *E. roseum* subsp. *consimile* (Okur-116 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTAAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGGCATCGCCCCTTGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGTCACCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG

CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGATGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

19. *E. roseum* subsp. *subsessile* (Okur-29 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTGGCGCTCACAAGCCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCCGTTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCTGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

20. *E. tetraganum* subsp. *lamyü* (Okur-115 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCTTGGCGCTCACAACCCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCCGTTTCGCGGG

GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACTGAGCATCGG
ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCCCTACCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

21. *E. tetragonum* subsp. *tetragonum* (Okur-305 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCCTGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG
CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTCGCGGG
GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAAACTGAGCATCGG
ACCGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCCCTCCCTCGTGACGTT
GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

22. *E. tetragonum* subsp. *tournefortii* (Okur-366 & S. Makbul)

GTCGAATCCTGCATAGCAGAACAACCCGAGAACCGGTTAACAACCAGTTGG
GAGACGGGGGCATCGCCCCCTGCGCTCACAAACCCCGCTTGCTGTGGGTAG

CCCCACCGGGTCCACAACACGCGGGCATCAACGAAACCCGGCACGGAACGT
 GCCAAGGAACTCGAATAAGAGAAGCGCAGTCTCGGCACCCCGTTCGCGGG
 GTGTGTCGTGATCAAGCGCAATCTTTTCTATCAATATCATAACGACTCTCGG
 CAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATA
 CTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTT
 GCGCCCTAAGCCATTTGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAATCATCTA
 TTCGTCACCCAACCTCCGCTCCCCGAAAAGGAGCTTTGGTCCCGGGTACGGA
 AGTTGGCCTCCCGTGCTCTTGAAGCGCGGCTGGCCTAAACTGAGCATCGG
 ACTGATGATCTCCGAGGCACGCGGTGGTTGTTTCATTCCCTCCCTCGTGACGTT
 GCCAAGGAGCGTCTCCCGTACGAAGCTCCACGACCCTAGATTTACTATCGAT

Ek 3.

Tablo 1 (devam)

Cins	Sıra No	Takson	Populasyon Bilgileri
<i>Epilobium</i>	1	<i>E. algidum</i> Bieb.	A8 Rize: İkizdere, Cimil yolu, 1278 m, 27.07.2014, Okur 4 & S. Makbul (RUB); A2 Kütahya: Gediz Dağı, 2618 m, 12.07.2015, Okur 119 & S. Makbul (RUB).
	2	<i>E. alpestre</i> (Jacq) Krockner.	A8 Rize: Çamlıhemşin, Yukarı Kavrun, 2213 m, 19.07.2015, Okur 90 & S. Makbul(RUB).
	3	<i>E. anagallidifolium</i> Lam.	A8 Rize: Cimil, Başköy, 2333 m, 08.08.2014, Okur 121 & S. Makbul (RUB).
	4	<i>E. anatolicum</i> Hausskn.	A5 Amasya: Amasya, 1398m, 09.08.2014, Okur 297 & S. Makbul (RUB); Karabük: Eğri Ova, Keltepe çıkışı,

			07.08.2015, 1115m, Okur 343 & S. Makbul (RUB).
5	<i>E. confusum</i> Hausskn.	A8 Rize: Ovit Dağı, Ekşioğlu Yaylası, 2640 m, 28.07.2014, Okur 19 & S. Makbul (RUB); Artvin: Şavşat, Laşet Köprüsü, 1562 m, 30.07.2015, Okur 25 & S. Makbul (RUB).	
6	<i>E. frigidum</i> Hausskn.	C2 Muğla: Seki, Girdev Dağı, 2382 m, 31.07.2015, Okur 208& S. Makbul (RUB).	
7	<i>E. gemmancens</i> C. A. Mayer.	A8 Rize: Gürcü Düzü Yaylası, Çamlık Yaylası, 1973m, 30.08.2015, Okur 407 & S.Makbul (RUB); A8Trabzon: Demirkapı Köyü, Büyük Yayla,2346m, 12.08.2014, Okur 392& S.Makbul (RUB).	
8	<i>E. hirsutum</i> L.	A7 Gümüşhane: Kelkit-Ahmedi arası, yol kenarı su kenarı çayırılık, 1534 m,15.08.2014, Okur28&S.Makbul (RUB); A8Artvin: Ardanuç, Kutul Yaylası HarmanlıKöyü,811m,30.07.2014,Okur 22 & S. Makbul (RUB).	

Tablo 1 (devam)

Cins	Sıra No	Takson	Populasyon Bilgiler
	9	<i>E. lanceolatum</i> Seb. & Mauri.	A1Kırklareli: MahyaDağı,597m,14.07.2014, Okur 247 & S. Makbul (RUB); Zigana Tünel, 11.07.2015, Okur 175&S.Makbul (RUB).
	10	<i>E.minutiflorum</i> Hausskn.	A7Bayburt: Kop Dağı, 1793m, 15.08.2014, Okur 31& S. Makbul (RUB). C9Hakkari: HakkariDağı,1286m,19.07.2015,Okur 50 & S. Makbul (RUB).
	11	<i>E. montanum</i> L.	A8 Rize: İkizdere, Anzer yolu, yol kenarı,370 m,28.07.2014, Okur 13 & S. Makbul (RUB); Artvin: Artvin Atabarı Kayak Merkezi, Oruçlu Köyü, 1855m, 28.06.2015,Okur 170& S. Makbul(RUB).

12	<i>E. obscurum</i> Schreber.	C6 Hatay: Hassa, Çardak Yaylası, 1442 m, 04.07.2015, Okur 158 & S. Makbul (RUB).
13	<i>E. palustre</i> L.	A7 Giresun: Sis Dağı, 1930 m, 11.09.2014, Okur 433 & S. Makbul (RUB); A8 Rize: Cimil, Baş Köy üstleri, 2107 m, 27.07.2014, Okur 11 & S. Makbul (RUB).
14	<i>E. parviflorum</i> Schreber.	A1 Kırklareli: Mahya Dağı, 632m, 14.07.2014, Okur 250 & S. Makbul (RUB); A4 Kastamonu: Araç, Ilgaz Milli Parkı, 1666 m, 04.08.2014, Okur 330 & S. Makbul (RUB).
15	<i>E. ponticum</i> Hausskn.	A8 Rize: Anzer yolu, 1684 m, 28.07.2014, Okur 15 & S. Makbul (RUB); A7 Gümüşhane: Kürtün, Sarıbaba-Kazıkbeli arası, 11.07.2015, 843m, Okur 178 & S. Makbul (RUB).

Tablo 1 (devam)

Cins	Sıra No	Takson	Populasyon Bilgileri
<i>Epilobium</i>	16	<i>E. prionophyllum</i> Hausskn.	A7 Trabzon: Uzungöl, 1211 m, 23.08.2014, Okur 377 & S. Makbul (RUB); Giresun: Sis Dağı, 1935 m, 11.09.2014, Okur 432 & S. Makbul (RUB).
	17	<i>E. roseum</i> Schreber subsp. <i>consimile</i> (Hausskn.) P.H. Raven.	B7 Erzincan: Ahmediye Karayolları Bakım İst. civarı, 2095 m, 30.07.2015, Okur 109 & S. Makbul (RUB); A7 Trabzon: Trabzon, 1035m, 08.08.2015, Okur 116 & S. Makbul (RUB).

18	<i>E. roseum</i> Schreber subsp. <i>roseum</i> ..	A1 Kırklareli: Mahya Dağı, 616m, 14.07.2014, Okur 252& S. Makbul (RUB).
19	<i>E. roseum</i> Schreber subsp. <i>subsessile</i> (Boiss) P.H. Raven.	A2 Bursa: Uludağ, Şahinkaya- Uşaklı Kaya arası, 1886 m, 27.07.2014, Okur 29 & S. Makbul (RUB); A8 Erzurum: Tortum, Taşbaşı Köyü, 1901 m, 17.08.2014, Okur 40 & S. Makbul (RUB).
20	<i>E. tetragonum</i> L. subsp. <i>lamyi</i> (F.W.Schultz) Nyman.	A6 Samsun: Samsun, Bafra, Evren Uşağı-Sürmeli Köyleri arası, 147m, 07.08.2014, Okur 365& S. Makbul (RUB); A7 Gümüşhane: Yağmur Dere çıkışı, 1646 m, 30.07.2015, Okur 115 & S. Makbul (RUB).
21	<i>E. tetragonum</i> subsp <i>tetragonum</i> L.	A5 Samsun: 19 Mayıs, Esentepe Köyü, 184 m, 07.08.2015, Okur 373 & S. Makbul (RUB); A6 Samsun: Samsun, Bafra, Kolay, Esençay, şehir yeri mevki, 493m, 24.07.2014, Okur 305& S. Makbul (RUB).
22	<i>E. tetragonum</i> subsp. <i>tournefortii</i> (Michal.) H. Lev.	A6 Samsun: 19 Mayıs, 72 m, 23.08.2014, Okur 129 & S. Makbul (RUB); Samsun: Bafra, 19 Mayıs- Nebyan Dağı, 07.08.2014, 307 m, Okur 366& S. Makbul (RUB).

Ek 4.

Tablo 6 (devam)

Taksonlar		ITS (ITS1+5.8S+ITS2)																						
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4
		3	3	3	5	6	8	8	8	8	9	9	1	1	2	4	4	7	8	9	3	4	4	4
		0	2	3	3	7	0	3	7	8	0	1	1	5	7	7	8	9	3	3	9	0	1	2
<i>Chamerion</i>	<i>C. angustifolium</i>	A	G	T	T	.	T	.	C	T	C	T	C	G	C	G	A	C	T	C	.	A	T	T
	<i>C. colchicum</i>	A	G	T	T	.	T	.	C	T	C	T	C	G	C	G	A	C	T	C	.	A	T	T
	<i>C. dodonaei</i>	A	G	T	T	.	T	.	C	T	C	T	C	G	C	G	A	C	T	C	.	A	T	T
	<i>C. stevenii</i>	A	G	T	T	.	T	.	C	T	C	T	C	G	C	G	A	C	T	C	.	A	T	T
	<i>E. algidum</i>	C	T	C	C	C	C	A	T	C	G	C	G	T	A	A	T	T	C	T	C	G	A	A
<i>E. alpestre</i>

ÖZGEÇMİŞ

Suzan KUNDAKÇI 01/06/1991 tarihinde Mersin ili Erdemli ilçesinde doğdu. İlköğrenimini 1998 yılında Mersin ili Erdemli ilçesi Alata İlköğretim Okulu'nda tamamladı. 21/10/2009 tarihinde başladığı lisans eğitimini 21/06/2013 tarihinde Recep Tayyip ERDOĞAN Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde tamamladı. 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir.

