

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DOĞU KARADENİZ'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *PLAGIOMNIUM* T.J.KOP.
TAKSONLARI ÜZERİNE MOLEKÜLER VE MORFOLOJİK İNCELEMELER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşenur AYDIN

EKİM 2025
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DOĞU KARADENİZ'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *PLAGIOMNIUM* T.J.KOP.
TAKSONLARI ÜZERİNE MOLEKÜLER VE MORFOLOJİK İNCELEMELER

Ayşenur AYDIN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
"YÜKSEK LİSANS (MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 08.09.2025

Tezin Savunma Tarihi : 13.10.2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

“Doğu Karadeniz’de Yayılış Gösteren *Plagiomnium* T.J.Kop. Taksonları Üzerine Moleküler ve Morfolojik İncelemeler” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen ve bilim insanı olma yolundaki ilk adımlarımı atarken kıymetli bilgileriyle ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ’a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, laboratuvar uygulamalarında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak sürece önemli katkı sağlayan Prof. Dr. Mutlu GÜLTEPE hocama ve çalışmamda kullandığım organizmayı temin ederek araştırmamın yürütülmesine olanak sağlayan Prof. Dr. Nevzat BATAN hocama teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her aşamada bana yol gösteren ve değerli yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Ertuğrul KUTLU, Araş. Gör. Betül YEŞİLYURT ve Araş. Gör. Funda BİLGİLİ TETİKLİOĞLU hocalarıma teşekkür ederim. Tez çalışması sürecinde bana desteklerini esirgemeyen Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarındaki tüm arkadaşlarımın her birine ayrı ayrı teşekkürlerimi arz ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez sürecimde de sabırları, sevgileri ve destekleriyle daima yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu süreçte desteğini ve dostluğunu esirgemeyen sevgili arkadaşım Aybüke YAYLA’ya ve moral, anlayış ve yardımlarıyla bana güç veren tüm arkadaşlarıma minnettarım.

TUBİTAK BİDEB 2210-A Yurtiçi Genel Yüksek Lisans bursu, bursiyer öğrencisi olarak yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen TUBİTAK kurumuna teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen FBA-2025-16109 numaralı proje kapsamında yürütülmüş olup, sağladıkları maddi destek için KTÜ BAP Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Ayşenur AYDİN

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Doğu Karadeniz’de Yayılış Gösteren *Plagiomnium* T.J.Kop. Taksonları Üzerine Moleküler ve Morfolojik İncelemeler ” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 13/10/2025

Ayşenur AYDİN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. <i>Plagiomnium</i> Cinsi	3
1.1.1. Ekolojik Adaptasyon ve Kullanım Alanları.....	4
1.2. Literatür Özeti	6
1.3. İçsel Kopyalama Bölgesi (ITS)	9
1.4. Kloroplast genomu	12
1.4.1. <i>trnL</i> İntron ve <i>trnL-F</i> Genler Arası Bölgesi.....	13
1.5. nrDNA ve cpDNA'nın Birlikte Kullanımı	14
1.6. Filogenetik Ağaç Oluşturma	15
1.6.1. Mesafe Temelli Metotlar.....	17
1.6.2. Karaktere Dayalı Metotlar.....	18
1.6.3. Çoklu Dizi Hizalaması ve Evrimsel Modelin Seçilmesi.....	19
1.6.4. Filogenetik Ağaçların Değerlendirilmesi.....	20
1.7. Morfolojik Veriler	21
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	23
2.1. Morfolojik Çalışmalar	23
2.1.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları ve Analizi	23
2.1.2. Morfolojik Veri Analizi	25
2.2. Moleküler Çalışmalar	26
2.2.1. Yapraklardan Toplam DNA Eldesi.....	26
2.2.2. PCR Uygulaması.....	26
2.2.3. Agaroz Jel Elektrophorezi	27

2.2.4. DNA Dizi Analizi	28
2.2.5. Dizi Hizalama ve Genetik Mesafeler	28
2.2.6. Filogenetik Analizler.....	28
3. BULGULAR.....	30
3.1. Morfolojik Bulgular	30
3.1.1. <i>Plagiomnium affine</i> (Blandow) T.J.Kop.	31
3.1.2. <i>Plagiomnium cuspidatum</i> (Hedw.) T.J.Kop.....	31
3.1.3. <i>Plagiomnium elatum</i> (Bruch & Schimp.) T.J.Kop.....	32
3.1.4. <i>Plagiomnium ellipticum</i> (Brid.) T.J.Kop.	33
3.1.5. <i>Plagiomnium medium</i> (Bruch & Schimp.) T.J.Kop.....	34
3.1.6. <i>Plagiomnium rostratum</i> (Schröd.) T.J.Kop.....	35
3.1.7. <i>Plagiomnium undulatum</i> (Hedw.) T.J.Kop.	35
3.2. Morfolojiye Dayalı Filogenetik Analiz	36
3.3. Temel Bileşen Analizi (PCA)	37
3.4. Moleküler Bulgular.....	38
4. TARTIŞMA	49
4.1. Morfolojik Analiz.....	49
4.2. Moleküler Analiz.....	51
4.2.1. Genetik Mesafeler	51
4.2.2. Filogeni	53
4.3. Morfolojik ve Moleküler Verilerin Birlikte Analizi.....	56
5. SONUÇLAR.....	58
5.1. Morfolojik Verilere Dayalı Sonuçlar	58
5.2. Moleküler Verilere Dayalı Sonuçlar	58
5.3. Karşılaştırmalı ve Taksonomik Sonuçlar	59
6. ÖNERİLER.....	61
7. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans

ÖZET

DOĞU KARADENİZDE YAYILIŞ GÖSTEREN *PLAGIOMNIUM* T.J.KOP.
TAKSONLARI ÜZERİNE MOLEKÜLER VE MORFOLOJİK İNCELEMELER

Ayşenur AYDIN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Yusuf BEKTAŞ
2025, 76 Sayfa

Plagiomnium cinsi (Bryophyta: Mniaceae), Türkiye'nin Kuzeydoğu Karadeniz Bölgesi'nde yedi tür (*P. affine*, *P. cuspidatum*, *P. elatum*, *P. medium*, *P. ellipticum*, *P. rostratum* ve *P. undulatum*) ile temsil edilmektedir. Bu çalışmada, söz konusu türlerin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılarak filogenetik ilişkileri ortaya konmuştur. Morfolojik çalışmalar kapsamında yaprak karakterlerinin çok değişkenli istatistiksel analizleri (PCA ve Hiyerarşik Kümeleme) kullanılmıştır. Moleküler filogeni için nükleer ITS2 ve kloroplast *trnL-F* bölgeleri dizilenmiş ve Maksimum Tutumluluk (MP), Maximum olabilirlik (ML) ve Bayesçi Çıkarım (BI) yöntemleri ile filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar, genel olarak uyumlu olan morfolojik ve moleküler bulgulara göre *P. medium* ve *P. ellipticum*'u kardeş türler olduğu, *P. rostratum*'un cins içinde gruplar arası geçiş özellikleri sergilediği, *P. undulatum* ve *P. cuspidatum*'un ise bazal konumda yer aldığı belirlenmiştir. *P. medium* ve *P. ellipticum* arasındaki düşük genetik mesafe, bu türler arasında geçmişte melezleşme veya allopoliploidi gibi evrimsel mekanizmaların rol oynamış olabileceğine işaret etmektedir. Bu çalışma, *Plagiomnium* cinsinin taksonomisindeki problemlerin çözümünde morfolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanımının kritik önem taşıdığını ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Mniaceae, *Plagiomnium*, Yapraklı Kara yosunları, Morfoloji, Genetik, Filogeni

Master Thesis

SUMMARY

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL INVESTIGATIONS ON *PLAGIOMNIUM* T.J.KOP.TAXA DISTRIBUTED IN THE EASTERN BLACK SEA

Ayşenur AYDIN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Molecular Biology and Genetics Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Yusuf BEKTAŞ
2025, 76 Pages

The genus *Plagiomnium* (Bryophyta: Mniaceae) is represented by seven species (*P. affine*, *P. cuspidatum*, *P. elatum*, *P. medium*, *P. ellipticum*, *P. rostratum* and *P. undulatum*) in the Northeastern Black Sea Region of Türkiye. In this study, morphological and molecular characterization of these species was made and their phylogenetic relationships were revealed. Multivariate statistical analyses of leaf characters (PCA and Hierarchical Clustering) were used within the scope of morphological studies. For molecular phylogeny, the nuclear ITS2 and chloroplast *trnL-F* regions were sequenced, and phylogenetic analyses were performed using Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML), and Bayesian Inference (BI) methods.

The results, based on the largely congruent morphological and molecular evidence, revealed that *P. medium* and *P. ellipticum* are sister species. *P. rostratum* exhibited transitional characteristics between groups within the genus, whereas *P. undulatum* and *P. cuspidatum* were placed in basal positions. The low genetic distance between *P. medium* and *P. ellipticum* suggests that evolutionary mechanisms such as past hybridization or allopolyploidy may have played a role between these species. This study highlights the critical importance of integrating morphological and molecular data in resolving the taxonomic problems within the genus *Plagiomnium*.

Key words: Mniaceae, *Plagiomnium*, Mosses, Morphology, Genetic, Phylogeny

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Plagiomnium'un bilimsel sınıflandırması (Koponen 1968)	3
Şekil 2. ITS bölgesi.....	10
Şekil 3. Briyofit filogenetiğinde kullanılan kodlayan ve kodlamayan bölgelerin konumlarını gösteren cpDNA.....	12
Şekil 4. trnL intronu ve trnL/F intergenik aralayıcı	13
Şekil 5. Filogenetik analizde kullanılan yöntemlerin sınıflandırılması	17
Şekil 6. <i>Plagiomnium affine</i> 'ye ait a) yaprak şekli b) dış yapısı ve bordür sıraları c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntü	31
Şekil 7. <i>Plagiomnium cuspidatum</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler	32
Şekil 8. <i>Plagiomnium elatum</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntü	33
Şekil 9. <i>Plagiomnium ellipticum</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler	34
Şekil 10. <i>Plagiomnium medium</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler	34
Şekil 11. <i>Plagiomnium rostratum</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler	35
Şekil 12. <i>Plagiomnium undulatum</i> 'a ait a) yaprak şekli, b) dış yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler	36
Şekil 13. Morfolojik karakterlere dayalı Öklid mesafe ölçütü kullanılarak oluşturulan dendrogram.....	37
Şekil 14. <i>Plagiomnium</i> türlerinin morfolojileri temelli Temel Bileşenler Analizi (PCA) grafiği.	38
Şekil 15. cpDNA trnL-F dizi veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı.....	43
Şekil 16. cpDNA trnL-F dizi veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı.....	43
Şekil 17. cpDNA trnL-F dizi veri setinden türetilen Bayesian çıkarsama (BI) ağacı.....	44
Şekil 18. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı.....	45
Şekil 19. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı.....	45
Şekil 20. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen Bayesian çıkarsama (BI) ağacı	46

Şekil 21.	Kombine (ITS2 + <i>trnL</i> -F) veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı	47
Şekil 22.	Kombine (ITS2 + <i>trnL</i> -F) veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı	47
Şekil 23.	Kombine (ITS2 + <i>trnL</i> -F) veri setinden türetilen Bayesian çıkarsama (BI) ağacı	48



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Bazı yaygın kullanılan yer değiştirme modellerinin özeti. a: A↔C, b: A↔G, c: A↔T, d: C↔G, e: C↔T, f: G↔T ((Felsenstein 1985)).....	20
Tablo 2. CTAB DNA İzolasyon Aşamaları	26
Tablo 3. ITS2 ve trnL–F bölgelerinin amplifikasyonunda kullanılan evrensel primerler	26
Tablo 4. ITS2 ve trnL–F bölgeleri için PCR reaksiyon bileşenleri (50 µl son hacim)	27
Tablo 5. ITS2 ve trnL–F bölgeleri için PCR amplifikasyon koşulları.....	27
Tablo 6. trnL-F bölgelerinin değişken nükleotit pozisyonları (bilgi verici nükleotitler kırmızı renklidir)	39
Tablo 7. ITS2 bölgelerinin değişken nükleotit pozisyonları (bilgi verici nükleotitler kırmızı renklidir)	41
Tablo 8. Yedi <i>Plagiomnium</i> türü arasında cpDNA trnL-F bölgesine dayalı olarak hesaplanan ikili genetik mesafe değerleri.....	42
Tablo 9. Yedi <i>Plagiomnium</i> türü arasında nrDNA ITS2 bölgesine dayalı olarak hesaplanan ikili genetik mesafe değerleri.....	42
Tablo 10. Yedi <i>Plagiomnium</i> türü arasında bütünleşik veri setine (cpDNA trnL-F + nrDNA ITS2) dayalı ikili genetik mesafe değerleri	42

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
nç	: Nükleotit çifti
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
kB	: Kilobaz
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
nl	: Nanolitire
sn	: Saniye
µl	: Mikrolitre
AIC	: Akaike Bilgi Kriteri
BI	: Bayesian Çıkarımı
BIC	: Bayesian Bilgi Kriteri
BLAST	: Temel Yerel Hizalama Arama Aracı
BPP	: Bayesian Artalan Olasılığı
BS	: Bootstrap Destek Değeri
cpDNA	: Kloroplast DNA
CTAB	: Cetyltrimethylammonium bromide
F81	: Felsenstein (1981)
GTR	: General Time Reversible
HKY85	: Hasegawa–Kishino–Yano (1985)
IGS	: Genler arası bölge
ITS	: İçsel Kopyalama Bölgesi
JC69	: Jukes–Cantor (1969)
K2P	: Kimura 2-parametre (1980)
MCC	: Maksimum Klad Güvenilirliği
MCMC	: Markov Zincir Monte Carlo
ML	: Maksimum Olabilirlik Metodu

MP	: Maksimum Tutumluluk Metodu
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NJ	: Komşu Katılım
nrDNA	: Nüklear ribozomal DNA
OTU	: Operasyonel Taksonomik Birim
P.	: <i>Plagiomnium</i>
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rRNA	: Ribozomal RNA
TAE	: Tris-Asetat-EDTA Tamponu
UPGMA	: Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Gruplama Yöntemi

1. GENEL BİLGİLER

Türkiye, Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin kesişim noktasında yer alması nedeniyle önemli bir gen merkezi konumundadır (Ekim vd., 2000). Bu konumu, ülkenin yedi coğrafi bölgesinde farklı iklim, flora ve fauna özelliklerinin görülmesini sağlarken, aynı zamanda Türkiye'yi dünyanın en önemli üç ekolojik bölgesine sahip ülkelerden biri haline getirmektedir. İklim ve habitat çeşitliliğinin yüksek olması, ülkenin biyolojik zenginliğini artırarak tür çeşitliliğine önemli ölçüde katkı sağlamaktadır. Bu nedenle Türkiye, Avrupa ve Orta Doğu'nun en çeşitli ekosistemlerine sahip ülkelerinden biri olup, Avrupa kıtasında biyolojik çeşitlilik açısından dokuzuncu sırada yer almaktadır (Demirayak, 2023). Sahip olduğu 11.707 bitki taksonu ile dünya genelinde önemli flora alanlarından biri olan Türkiye, aynı zamanda yüksek endemizm oranıyla da dikkat çekmektedir. Ülkede 3.649 endemik bitki taksonu bulunurken, Türkiye'den 15 kat daha büyük olan Avrupa kıtasının yalnızca 2.750 endemik taksona sahip olması, Türkiye'nin bitki çeşitliliği açısından ne denli önemli bir konumda olduğunu ortaya koymaktadır (Güner & Akçiçek, 2014).

Türkiye coğrafik konumu, iklim şartları, ekosistem çeşitliliği gibi birçok nedenden kaynaklı briyofitler için de önemli bir ev sahipliği yapmaktadır (Abay vd., 2016; Batan vd., 2014; Batan vd., 2017; Erata vd., 2020; Kara vd., 2014; Kırmacı vd., 2022; Özdemir & Batan 2016; Unan vd., 2024; Uyar vd., 2020). Briyofit terimi, yunanca yosun anlamına gelen bryon ve bitki anlamına gelen phyton kelimelerinden türetilen bir yosun bitkisi anlamına gelir (Vanderpoorten & Goffinet, 2009). Briyofitler yaşam yapısı basit olan, çiçek açmayan ve çok çeşitli morfolojiler sergileyen fotosentetik bitkilerdir. (Angela vd., 2009; Singh vd., 2020). Kuzey Kutbu ve Antarktika başta olmak üzere içerdikleri 20.000 türle geniş dağılım göstermektedirler (Bahuguna vd., 2013; Patiño & Vanderpoorten 2018). Briyofitler, Marchantiophyta (ciğerotları), Bryophyta (yapraklı karayosunları) ve Anthoceroophyta (boynuzotları) olmak üzere üç filumu kapsar (Martínez-Abaigar & Núñez-Olivera, 2021; Shaw vd., 2011).

Yaşam döngüsünde gametofit baskındır ve diploid nesil haploid nesle bağlı olarak gelişir (Schofield, 2024; Shaw vd., 2011). Genellikle nemli ortamlarda yaşarlar ve spermin yumurtayı dölleyebilmesi için de suya ihtiyaç vardır (Shah, 2023). Küçük boyutlarına rağmen briyofitler biyokütlelerinde yüksek miktarda su, besin ve karbon depolayabilirler

(Bahuguna vd., 2013). Bu özellikleri sayesinde ekosistem işleyişinde kritik rol oynamaktadırlar.

Briyofitlerin birçok önemli özelliği bulunmaktadır. Örneğin, düşük sıcaklıkta (Patiño & Vanderpoorten 2018) ve pürüzlü yüzeylerde büyümeleri sayesinde besin kıtlığına, dona ve kuraklığa dayanıklıdırlar (Bahuguna vd., 2013). Poikilohidrik özellik gösterdikleri için ortamın suyuna bağımlıdırlar (Horn vd., 2021). Bundan dolayı nemli ortamları severler ve su altı dünyasına da uyum sağlamaları kolaylaşmıştır (Bahuguna vd., 2013). Yüksek metal biriktirme kapasitelerinden dolayı hava kirliliğinde biyoindikatör olarak görev almaktadırlar (Singh vd., 2020). Briyofitler hem doğal hem de antropojenik faktörlerden etkilenen ağaç türü kompozisyonu ve jeoloji koşullar dahil olmak üzere çeşitli çevresel faktörlere yanıt verir (Kutnar vd., 2023). Çeşitli bakteri, arke, mantar ve diğer mikrobiyal ökaryot topluluklarına ev sahipliği yaparlar (Chen & Nelson, 2022; Davey & Currah, 2006; Glime, 2024). Genel olarak briyofitler substratları ile hava arasındaki boşluğu fiziksel olarak işgal ederek su tutma, depolama ve toprak hidrolojisinde önemli bir rol oynarlar. (Slate vd., 2024) Ekolojik uyumları ve ekosisteme katkıları bakımından yaşam için önemli bir yere sahip olan briyofitler birçok açıdan ele alınmış ve hala bu alanda çalışmalar yapılmaya devam etmektedir.

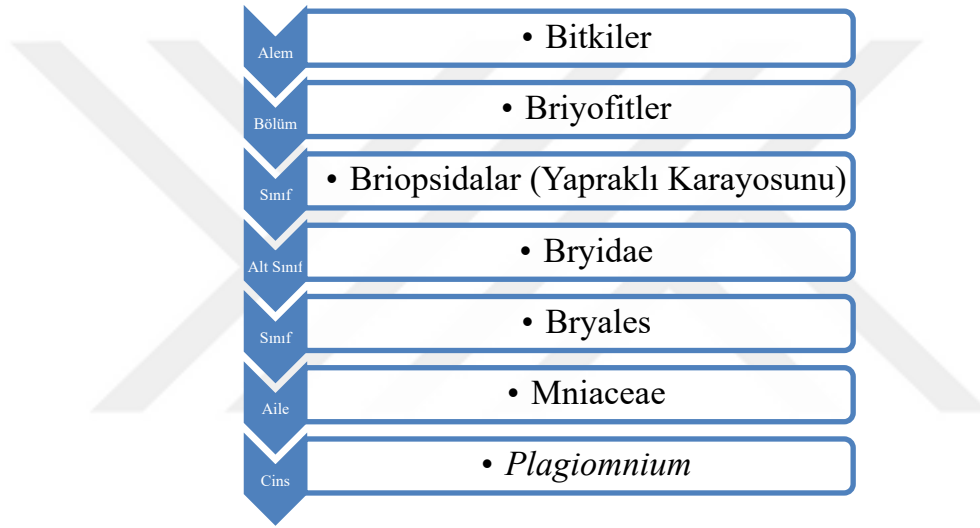
Türkiye, bulunduğu konum ve zengin ekolojik koşulları sayesinde bitkiler için dünyanın en önemli gen merkezlerinden biridir (Tan, 2010). Türkiye’de son yıllarda yapılan briyofit çalışmalarında önemli yeni kayıtlar literatüre kazandırılmıştır (Abay vd., 2022; Erata & Batan, 2022; Ezer vd., 2024; Keskin vd., 2022; Keskin & Ezer, 2024; Kırmacı & Çatak, 2020; Kırmacı vd., 2022; Papp & Sabovljević, 2003; Şimşek, 2024; Unan vd., 2024; Ursavaş vd., 2021; Uygur vd., 2022). Ancak bu kayıtlar ekolojik ve flora açısından detaylı bilgi verdikleri halde moleküler verilerle henüz yeterli düzeyde desteklenmemiştir.

Plagiomnium T.J.Kop., Mniaceae ailesine ait bir yosun cinsidir ve dünyada yaklaşık 34 türü tanımlanmıştır (Karimi vd., 2021). Yaprak kenarlarındaki uzun hücreler (bordür) ile karakterize edilmektedir (Taşcı, 2024). Çevresel değişimlere ve stres etkenlerine karşı gösterdiği uyum sayesinde geniş yayılım göstermektedir (Harris, 2008). *Plagiomnium* cinsi genetik çeşitliliğin önemli ölçüde artmasını sağlayan allopoloidi evrimsel sürecine sahiptir (Wyatt vd., 1988). *Plagiomnium* türleri Türkiye, özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi birçok *Plagiomnium* türüne ev sahipliği yapmaktadır (Batan vd., 2021; Batan vd., 2024; Cengiz vd., 2019; Çalışkan vd., 2019; Erata vd., 2021; Unan vd., 2024). Bu kapsamda çalışmanın amacı,

Doğu Karadeniz’de yayılış gösteren *Plagiomnium* taksonlarının taksonomik durumlarını morfolojik ve moleküler özelliklerine dayalı olarak ortaya koymaktır.

1.1. *Plagiomnium* Cinsi

Daha önceleri Bryopsida sınıfının Mniaceae familyasında yer alan *Mnium* L. cinsine dahil edilen *Plagiomnium*, daha sonra cins düzeyinde yeniden sınıflandırılmıştır (Şekil 1). Günümüzde *Plagiomnium* cinsi dünyada yaklaşık 34 tür ile temsil edilmektedir (Karimi vd., 2021).



Şekil 1. *Plagiomnium*'un bilimsel sınıflandırması (Koponen 1968)

Plagiomnium cinsinin tanımlanması, morfolojik olarak birçok karaktere dayanmaktadır. Bu karakterler, türler arasında spesifik farklılıklar sunarken, aynı zamanda cins düzeyinde de tanımlayıcı özellikler sağlamaktadır. Mniaceae ailesinde eşey durumunun taksonomik bir karakter olarak kullanımına dair farklı görüşler bulunsa da genel kabul gören görüş Lowry (1948) tarafından ortaya konulan dioik (iki evcikli) ve monoik (tek evcikli) olma durumuna göredir (Koponen, 1972).

Koponen'e (1968) göre, *Plagiomnium* cinsi hem ortotropik (dikey) hem de plagiotropik (yatay) yönelimlerde gelişen dallanma sergiler. Plagiotropik sürgünler bazı *Plagiomnium* türlerinde kabuk, çürümüş odun gibi özel substratlara uyum sağlamaktadır. Anatomik yapı incelendiğinde, epidermisin iki veya daha fazla hücre katmandan oluştuğu ve hücre duvarlarında önemli bir ikincil kalınlaşma olmadığı görülmüştür. Rizoidler

makronemalar (kalın ipliksi) ve mikronemler (ince ipliksi) olarak kendini gösterir ve yalnızca gövdenin tabanında değil, aynı zamanda üst bölgelerinde de yaygın olarak dağılır. Tipik olarak, mikronemalar makronemalardan önce filizlenirken, plagiotropik sürgünlerde her iki rizoid tipi de aynı anda gelişebilir. *Mniaceae* familyasında yaprak özellikleri açısından orta damar (costa)'da enine kesitte dört ana bileşen görülür: dorsal ve ventral epidermis, belirgin kılavuz hücreler ve iletim demeti. *Plagiomnium* cinsi içinde, sadece dorsal stereid bandı gelişmektedir, ventral stereid bandı yoktur. Yaprak genellikle dişlidir ve dişler 1-2 hücreden oluşur. Yaprak kenarındaki uzun, dar ve kalın duvarlı sınır (bordür) hücreleri, cinsin karakteristik özelliğidir ve bu özellik *Mnium*'dan ayrılmaktadır. *Mnium*'un kenar hücreleri laminal hücrelere benzerdir. *Plagiomnium*'un laminal hücreleri yuvarlak-altıgen biçimli, ince duvarlı ve boyutları genellikle küçük ya da orta büyüklüktedir.

Sporofitin yapısal konfigürasyonu, *Mniaceae* ailesinin diğer bazı üyelerininkinden farklıdır; kapsülün morfolojisi ve stomanın mimarisi türler arasında kritik ayırt edici özellikler olarak görev görür. Örneğin, *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop.'un sporları, papillaların büyüklüğü ve yapısı bakımından *Mnium hornum* Hedw. sporlarından ayrılır. Karayosunlarının kapsülünü kapatan kapak operkulum çoğunlukla rostrumsuzdur. *Plagiomnium* gametofitlerinde kırmızımsı pigmentler bulunmaz, bu yönüyle *Mniaceae* ve *Cinclidieae*'den ayrılır. Bazı türlerde sporofit setasında kırmızı pigment görülebilir. Dolayısıyla hem vejetatif morfoloji hem de sporofit özellikleri *Plagiomnium*'u *Mniaceae* içindeki diğer cinslerden ayırt eden temel karakterlerdir (Koponen, 1968).

Genel olarak, *Plagiomnium* cinsini *Mnium* cinsinden ayıran başlıca özellikler, yapraklarında tek sıra halinde yerleşmiş kenar dişleri olması, yaprak kenarında sınır (bordür) varlığı (Koponen, 1968; Taşcı, 2024) ve hem plagiotropik hem de ortotropik sürgünlerden oluşan dimorfik büyüme alışkanlığıdır (Harris, 2008). Bu morfolojik farklılıklara sahip *Plagiomnium* türleri, dünya genelinde geniş bir yayılım göstermektedir (Fuertes & Olivan, 2008; Gómez-Menor vd., 1999; Koponen, 1981; Koponen, 1982; Koponen, 1983; Koponen, 1993; Ochyra, 2004; Sérgio & Garcia, 2011). Genellikle, orman altı tabakalarında, nemli topraklarda, dere kenarlarında ve taş yüzeylerinde gelişim gösterir.

1.1.1. Ekolojik Adaptasyon ve Kullanım Alanları

Briyofitler, ekosistemlerde su dengesinin korunmasından mikrobiyal etkileşimlere kadar kritik roller üstlenen organizmalardır. *Plagiomnium* cinsi dahil olmak üzere genel

olarak briyofitler çevresel değişikliklere dayanıklı ve ekosistemde su dengesinin korunmasında etkin rol oynadıkları için bilimsel araştırmalarda sıklıkla hedef alınmaktadır. Örneğin, Shi vd., (2022)'de *Plagiomnium* cinsine ait *P. acutum* (Lindb.) T.J.Kop. türünün klorofil içeriği, substratın su tutma kapasitesi ve toplam azot içeriği ile oldukça pozitif bir ilişki içinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Plagiomnium cinsi birçok briyofit gibi mikroorganizmalar ile simbiyotik ilişki içindedir. Bu ilişki, ilgili mikroorganizmanın metabolik süreçlerini ve savunma mekanizmalarını destekler. Saha ve ark. (2021), *P. rostratum* (Schrab.) T.J.Kop. ile ilişkili mikroorganizmaların (*Aspergillus* Micheli ve *Penicillium* Link) karbonhidrat ve fosfor içeriğinin mikrobiyal büyüme ile pozitif korelasyon gösterdiği ve bu besin maddelerinin epifitik mikrobiyal kolonizasyonu destekleyici roller oynadığını tespit etmiştir. Bu bulgular, *Plagiomnium* cinsinin ekosistem içerisindeki besin döngüsü ve simbiyotik etkileşimlerde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Plagiomnium cinsinin bir diğer dikkat çekici özelliği, yabancı otların büyümesinde etkili bir rol oynamasıdır; *Plagiomnium undulatum*'un (Hedw.) T.J.Kop. *Sinapis arvensis* L. (yabani hardal) ve *Avena sterili* L. (yabani yulaf) fide büyümesinde allelopatik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Ballı vd., 2019; Düzelten Ballı vd., 2018).

Bazı *Plagiomnium* türleri, biyoizleme ve tarım uygulamalarında daha verimli ışık koşullarının belirlenmesine katkı sağlayabilir. Moźdzeń vd., (2014), *P. undulatum*'da ışık spektral bileşiminin gametofit uzunluğu ve ağırlığı üzerindeki etkileri inceleyerek, bu türlerin büyüme koşullarının optimize edilmesinin biyoizleme uygulamalarında daha verimli ışık koşullarının belirlenmesine yardımcı olabileceğini öne sürmüştür.

Plagiomnium cinsinin birçok çalışmada biyoindikatör olarak ve tıbbi kullanım açısından etkin olduğu vurgulanmaktadır. Örneğin, *P. acutum* (Lindb.) T.J.Kop. antioksidan özelliklerinden dolayı tedavi edici ajanların geliştirilmesinde flavonoidler için zengin bir kaynaktır ve geleneksel tıp çalışmalarında potansiyel bir aday olarak kabul edilmiştir (Li vd., 2022). *P. cuspidatum* türünün katalaz aktivitesinin yüksek olduğu ve böylece zararlı kimyasalların etkisini azaltarak çevresel kirliliği önlemede önemli biyoindikatör özellik gösterdiği vurgulanmıştır (Semerjyan & Semerjyan, 2022).

Plagiomnium cinsi biyolojik aktif bileşikler açısından önemli bir doğal kaynak sunmaktadır ve antioksidan ile enzim inhibisyon potansiyellerine sahip olduğunu göstermektedir. Önder vd. (2022) *P. ellipticum*'un (Brid.) T.J.Kop. fitokimyasal içeriklerini

ilk kez ortaya koymuştur ve bu tür ilaç, kozmetik ve biyoteknoloji alanlarında potansiyel kullanımına yönelik yeni araştırmalara kapı arayabilir.

Plagiomnium cinsi, biyoizleme amacıyla yaygın şekilde kullanılmakta olup, çinko ve kurşun gibi ağır metallerin *P. undulatum* (Hedw.) T.J.Kop. türlerinde fotosentetik pigment miktarını etkilediği gözlemlenmiştir (Ezer vd., 2016). Bu sayede, *Plagiomnium* cinsi çevresel değişiklikleri ve kirleticilerin etkilerini erken tespit etme kapasitesine sahip olduğundan, ekosistemlerin iyileştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, bu biyoizleme uygulamaları, ekosistemlerin sürdürülebilirliğini sağlamak amacıyla daha doğru veri toplamaya imkân sağlar. *Plagiomnium* cinsinin filogenetik çeşitliliği ve ekolojik uyumu göz önüne alındığında, bazı türlerin ağır metal stresine karşı geliştirdiği adaptasyonlar, cinsin geniş çevresel toleransına katkıda bulunabilir (Wu vd., 2009). Bu adaptasyonlar, *Plagiomnium* türlerinin kirlilik göstergesi olarak kullanılma potansiyelini artırabilir. Tüm bu bulgular, *Plagiomnium* cinsinin hem ekosistem sağlığının korunmasında hem de insan yaşamını iyileştiren teknolojilerde kilit bir rol oynayabileceğini işaret etmektedir.

1.2. Literatür Özeti

Wyatt vd., (1994) yaptığı çalışmada *Plagiomnium* cinsi içindeki filogenetik ilişkileri belirlemek için morfolojiye dayalı analiz yapmıştır. “Keskin dişli” klad (*P. ellipticum* (Brid.) T.J.Kop., *P. insigne* (Mitt.) T.J.Kop., *P. medium* (Bruch & Schimp.) T.J.Kop., *P. curvatulum* (Lindb.) Schljakov) ve “künt dişli” klad (*P. affine* (Blandow). T.J.Kop., *P. tezukae* (Sakurai) T.J.Kop., *P. ciliare* (Müll.Hal.) T.J.Kop., *P. elatum* (Bruch & Schimp.) T.J.Kop. olarak iki ana gruba ayrıldığını göstermiştir. Çalışmanın sonucu Koponen (1971)’in sonucunu büyük ölçüde desteklemiştir. Analiz, ayrıca *P. medium* ve *P. curvatulum*’un allopoliploid kökenli olduğunu ortaya koymuş; bu türlerin kökenlerinin sırasıyla *P. ellipticum* × *P. insigne* ve *P. ellipticum* × *P. elatum* melezleşmesine dayandığını desteklemiştir.

Koponen’in (1971) morfolojik karakterlere dayalı olarak oluşturduğu filogenetik ağaçta *P. undulatum* erken bir dallanma sergilerken, diğer türler daha sonra ayrılan bir grup halinde toplanmıştır. Orta düzey farklılaşmış grubu *P. insigne*, *P. medium*, *P. ellipticum* ve *P. curvatulum* türleri oluşturmaktadır. *P. elatum* ve *P. ciliare* ile *P. affine* ve *P. tezukae* yakın akraba çiftlerini oluşturur. Bu bulgulara göre, *P. undulatum*’u diğer türlerden ayırt edilmesini sağlayan dalgalı yaprak yapısının etken olduğunu gösterir. Yapılan moleküler çalışmalarda morfolojik ayrımı desteklemektedir. *P. undulatum* yapılan filogenetik

çalışmalarda monofiletik bir klad oluşturarak diğerk türlerden açıkça ayrılmakta ve tür düzeyinde genetik homojenliğı desteklemektedir (Stech & Sim-Sim, 2006).

Florida ve Georgia’da *P. cuspidatum* popölasyonları üzerine araştırmalar yapılmış ve yeni bir tür tespit edilmiştir. *P. cuspidatum* n=12 kromozomlu, biseksüel ve diploid bir tür iken yeni tespit edilen tür *P. floridanum* R.E.Wyatt & Odrzyk. n=6 kromozomlu, tek eşeyli, morfolojik ve ekolojik olarak farklıdır (Wyatt & Odrzykoski, 2012). Briyofitlerde gözlenen bu farklılaşmalar genetik sürüklenme, eşeyli rekombinasyon ve gen akışı arasındaki etkileşimlerle şekillendiğini gösterebilir (Hassel vd., 2005).

Plagiomnium cinsine dair yapılan son çalışmalar, cinsin evrimsel ilişkilerini ve taksonomik sınıflandırmasını daha iyi anlamamıza olanak tanımaktadır. Örneğın, Omar ve ark. (2021) *Plagiomnium insigne* türünü ilk kez Asya’da kayıt altına almış ve türün dioik (iki evcikli) yapısını, küçük hücrelere sahip eliptik yapraklarını ve yaprak kenarındaki iki hücreli dişlerin sayısının fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulgular, *Plagiomnium* cinsinin Asya’daki dağılımı hakkında önemli bir katkı sağlamaktadır.

Çin’de yapılan bir diğerk önemli keşif, *P. jiuzhaigouense* R.E.Wyatt türünün tanımlanmasıdır. Bu tür, ladin, köknar, karaçam, akçaagaç gibi yaprak dökken sert ağaçlarda ve ormanlardaki ladin kütüklerinde geniş alanlarda görölmektedir. *P. tezukae*’ye benzerlik gösteren bu tür, daha küçük yapraklara, daha kısa yaprak hücrelerine ve daha uzun dişlere sahiptir (Wyatt, 2021).

Arjantin’de yapılan bir revizyon çalışmasında, daha önce *P. rostratum* olarak tanımlanan tür, *P. rhynchophorum* (Harv.) T.J.Kop olarak yeniden adlandırılmış ve bu türün bölgedeki tehdit altındabulunan türlerden biri olduğı düşünölmektedir (Fuertes & Oliván, 2008).

Başlangıçta briyofitleri diğerk kara bitkilerinden ayıran özelliğın allopoliploidi göstermemeleri olduğı düşünölüyordu. Ancak Wyatt vd., (1992), *P. medium* türünü, *P. ellipticum* ve *P. insigne* türlerinin bir allopoliploidi olarak tanımlayarak bu görüşe istisna oluşturmuştur. Harris (2008)’da *Plagiomnium* cinsindeki nükleer ve kloroplast geneomik bölümleri arasındaki uyumsuzluğu *P. medium* ve *P. cuspidatum*’un allopoliploidinin kökeni ile açıklanabileceğini öne sürmüştür. *Plagiomnium* cinsindeki allopoliploidi önemli evrimsel mekanizma sunmaktadır. Allopoliploidi özelliğı cinsin yeni genetik kombinasyonlarının oluşturmasını sağlamakta ve aynı zamanda türlerin çevresel değışikliklere ve yeni habitatlara adapte olabilme yeteneklerini arttırmaktadır (Wyatt & Odrzykoski, 1998).

Benzer şekilde, Wyatt vd., (2021) tarafından yapılan bir başka çalışmada, *P. decursivum* R.E.Wyatt türü, yapılan kloroplast DNA analizlerine göre, *P. floridanum* ve *P. decursivum*'un allopoliploid *P. cuspidatum*'un ebeveynleri olduğu ve bu süreçte *P. floridanum*'un anasal ebeveyn rolü oynadığı öne sürülmüştür. Bu keşif, *Plagiomnium* cinsindeki poliploidleşme süreçlerinin daha iyi anlaşılmasına olanak tanımaktadır (Wyatt vd., 2021).

Moleküler filogenetik analizlerde ise Yi vd. (2018), *P. carolinianum* (Harv.) T.J.Kop., *P. maximoviczii* (Lindb.) T.J.Kop. ve *P. rhynchophorum*'un monofiletik bir klad oluşturduğunu ve *P. rhynchophorum subsp. maximoviczii* (Lindb.) Y.J.Yi & S.He ile *P. rhynchophorum subsp. rhynchophorum*'un iki alt tür olarak tek bir türü temsil ettiğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular, *Plagiomnium* türlerinin taksonomik sınıflandırmasını güçlendirecek önemli bir delildir.

Plagiomnium cinsi içindeki organel DNA aktarımı ile ilgili araştırmalar, türlerin filogenetik gelişimi hakkında önemli bilgiler sunar. *P. curvatulum* örneğinde, kloroplast ve mitokondriyal DNA dizileri, ata türlerinden türetilen *P. ellipticum* 'unkilerle uyumluluklar sergiledi. Bu, organel kalıtım transferi mekanizmalarında tek ebeveynli kalıtımın hâkim olabileceğini gösterir (Jankowiak-Siuda vd. 2008).

Mnium carolinianum L.E.Anderson olarak bilinen yosun türünün hem kloroplast hem de nükleer DNA dizileme analizleri sonucunda *P. rhynchophorum*'un eşadı (sinonimi) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *P. rostratum* ve *P. rhynchophorum*'un allopoliploidi olduğu, *P. rhynchophorum*'un *P. maximoviczii* ve *P. integrum* (Bosch & Sande Lac.) T.J.Kop. genomlarının birleşmesiyle, *P. rostratum*'un ise *P. vesicatum* (Besch.) T.J.Kop. ve *P. integrum* genomlarının birleşmesiyle olduğu tespit edilmiştir (Wyatt vd., 2021).

Plagiomnium cinsinin filogenetik ilişkileri de son yıllarda önemli bir çalışma alanı olmuştur. Huang vd. (2025), Mniaceae ailesinin kloroplast genomu üzerinde yaptıkları filogenetik analizler, *Plagiomnium* ile *Mnium* 'un kardeş cins olduğunu ve Mniaceae ailesinin monofilisini doğrulamışlardır. Bu çalışma, cinsin evrimsel geçmişinin netleşmesine katkıda bulunmuştur.

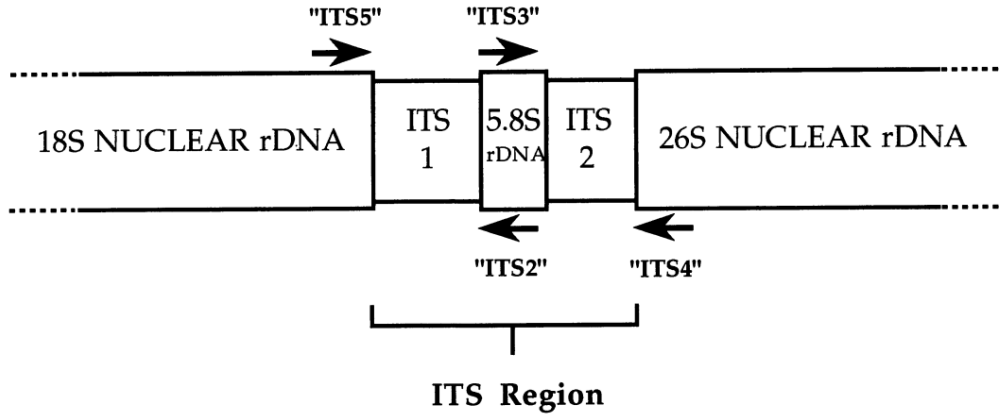
Plagiomnium cinsinin taksonomik sınıflandırması morfolojik benzerlikler nedeniyle zorluklar içermekte olup, moleküler filogenetik analizler bu türler arasındaki evrimsel ilişkileri netleştirmede önemli bir araçtır. Yapılan çalışmalar, *Plagiomnium*'un parafiletik yapıya sahip olduğunu (Harris, 2008; Koponen & Sun, 2016) ve bazı türlerin allopoliploid kökenli olduğunu ortaya koyarak, mevcut sınıflandırmanın revize edilmesi gerektiğini

göstermektedir (Harris, 2008). Bu durum, çalışmamızda ele alınan *Plagiomnium* türlerinin filogenetik analizlerinin, taksonomik konumlarını ve evrimsel süreçlerini daha iyi anlamamıza katkı sağlayacağını göstermektedir.

Plagiomnium cinsi Türkiye’de dahil olmak üzere tüm dünyada dağılım göstermektedir. *Plagiomnium* taksonları morfolojik çeşitliliği ve karmaşık evrimsel geçmişi ile dikkat çekmektedir. Bu açıdan ele alındığında *Plagiomnium* hem morfolojik hem moleküler verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle taksonomik revizyon gerektiren bir cins olarak öne çıkmakta ve genetik çeşitliliği sayesinde çevresel değişikliklere uyum sağlama potansiyeli yüksek bir grup olarak değerlendirilmektedir. Bu özellikler ışığında çalışmamızda Doğu Karadeniz’de yayılış gösteren *Plagiomnium* cinsinin yedi türü *P. affine*, *P. cuspidatum*, *P. elatum*, *P. ellipticum*, *P. medium*, *P. rostratum* ve *P. undulatum* türlerinin morfolojisi ve moleküler tanımlanması amaçlanmıştır.

1.3. İçsel Kopyalama Bölgesi (ITS)

Kromozomdaki küçük alt birim ribozomal RNA (18S rRNA) ve büyük alt birim rRNA (26S rRNA) genleri arasında bulunan aralayıcı DNA’dır ve nükleer ribozomal DNA (nrDNA) içerisinde yer alır. 45S ribozomal RNA’yı kodlayan genler, birkaç bine kadar kopyadan oluşan tandem diziler halinde düzenlenir ve iç transkripsiyon aralayıcıları ITS1 ve ITS2 tarafından tanımlanan 18S, 5.8S ve 26S rRNA bileşenlerini kapsar (Hřibová vd., 2011). Prokaryotlarda 16S ve 23S rRNA genleri arasında bulunan tek bir ITS bölgesi varken ökaryotlarda iki ITS bölgesi vardır. Bu iki ITS bölgesi, Şekil 2’de gösterildiği üzere 18S ve 5.8S rRNA genleri arasında bulunan ITS1 ile 5.8S ve 28S rRNA genleri arasında bulunan ITS2 bölgeleridir (Baldwin vd., 1995; Coleman, 2007; Merget & Wolf 2010).



Şekil 2. ITS bölgesi (Baldwin vd., 1995)

nrDNA dizileri üzerine yapılan çalışmalar, yaşamın temel soy hatları arasındaki çalışmalardan yakın akraba türler ve popülasyonlar arasındaki ilişkilere kadar çok geniş bir yelpazede filogenetik geçmişi çıkarmak için kullanılmıştır (Hillis & Dixon, 1991). Özellikle içsel kopyalama bölgeleri (ITS), gelişmiş yüksek yapılı türler arası farklılık göstermeleri, rRNA birimlerinin evrimsel olarak korunmuş yapısı sayesinde filogenetik ve taksonomik çalışmalarda etkili bir moleküler belirteç olarak kabul edilmiştir (Hřibová vd., 2011; Jobes & Thien, 1997). ITS1'in uzunluğu angiospermelerde 165 ile 298 ITS2 ise 177 ile 266 nükleotit çifti (nç) arasında değişmektedir (Liu vd., 2014; Wang, 1999). ITS, birçok angiosperm ailesinde filogenetik çalışmalarda kullanılan etkili bir moleküler belirteçtir (Álvarez & Wendel, 2003; Baldwin vd., 1995; Liu vd., 2014). Moleküler belirteç olarak kullanılmasının avantajları şunlardır:

- ITS1 ve ITS2 bölgelerini kapsayan DNA dizisi, polimeraz zincir reaksiyonu ile başarıyla çoğaltılabilir ve toplam uzunluğu genellikle 600–750 nükleotit civarındadır (Baldwin vd., 1995; Coleman, 2007; Stech & Quandt, 2010).
- Yüksek mutasyon oranı, tür düzeyinde farklılaşma kapasitesini artırır (Liu vd., 2014).
- Biparental kalıtımın gösterilmesi nedeniyle, yalnızca maternal kalıtım ile karakterize edilen kloroplast DNA'sına kıyasla taksonlar arasında üstün ayırt etme kapasitesine sahiptir (Álvarez & Wendel, 2003; Sang vd., 1995).
- Nükleer ribozomal genler, genellikle yaklaşık 10 kB uzunluğundaki 18S–5.8S–26S tekrar dizilerinden oluşur. Bu tekrarlar, her haploid genom içindeki bir veya daha fazla kromozomal lokusda tandem olarak düzenlenir. Bitki genomlarının yüz ila

binlerce nükleer nrDNA kopyasını barındırabildiği göz önüne alındığında, daha düşük kopya sayılarına sahip nükleer lokuslardan izolasyona ve başarılı amplifikasyona daha uygundurlar (Álvarez & Wendel, 2003).

- Cins düzeyinden popülasyon düzeyine kadar taksonomik ilişkileri netleştirmede etkili olan önemli derecede dizi değişkenliği sunar (Stech & Quandt, 2010).
- Nükleer belirteçler rekombinasyona açık olduklarından daha fazla varyasyon ortaya koyar ve türler arasında daha hassas ayırım yapılmasına olanak tanır (Gurushidze vd., 2010).

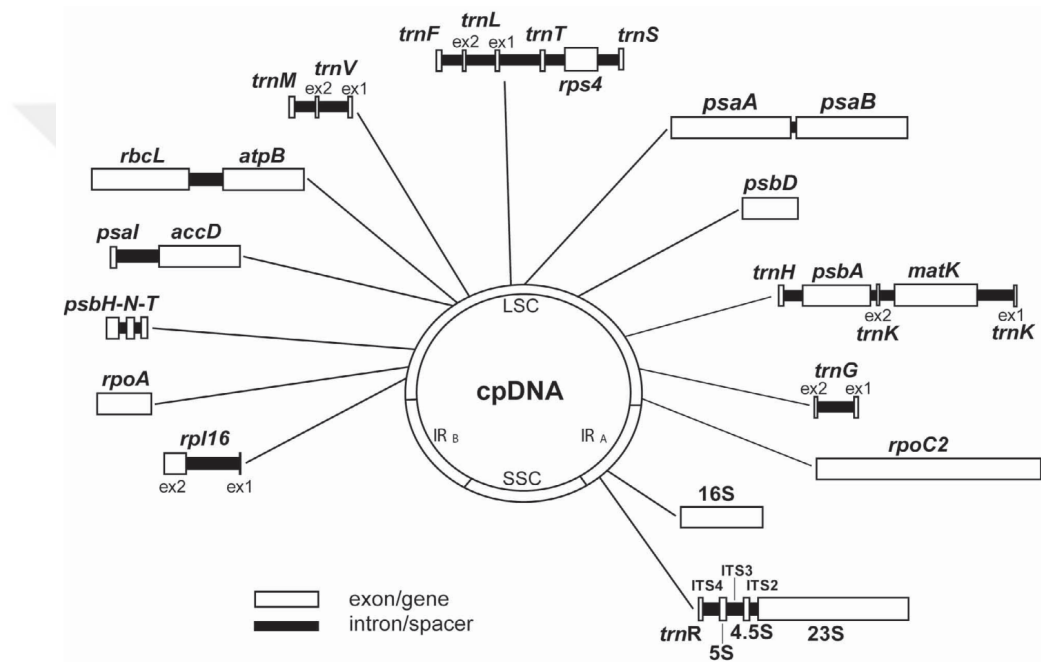
Tüm bu özellikler, ITS'nin sistematik biyoloji çalışmalarında yaygın kullanımını desteklemektedir.

ITS2 bölgesi, bitki genomlarında tekrarlanan korunmuş dizilere sahip olması ve tür düzeyinden daha düşük taksonomik hiyerarşilerde önemli dizi varyasyonunun gösterilmesi nedeniyle moleküler sistematik alanında güvenilir bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Ateş vd., 2022; Coleman, 2007; Koetschan vd., 2010; Sokołowska vd., 2022; Yao vd., 2010). ITS2 bölgesinin hızlı evrim göstermesinden kaynaklı tür düzeyinde ayrımların yapılmasında kullanılmaktadır (Feliner & Rosselló, 2007). ITS2 bölgesinin uzunluğu, dejenere DNA'nın bile çoğaltılmasına izin verecek kadar kısadır. Bu nedenle ITS2 bölgesi yaygın olarak yalnızca taksonomik farklılaşma için değil, aynı zamanda filogenetik ilişkilerin aydınlatılması için de kullanılır (Sokołowska vd., 2022). Ek olarak, bitki ve hayvanlardaki tür içi varyasyonlar, türler arası farklılıklardan daha düşük olduğu gösterilmiştir (Yao vd., 2010). Genel olarak, DNA belirtecinin değişkenliği arttıkça, özellikle yakın akraba türler arasındaki ilişkilerin çözünürlüğü de o ölçüde artmaktadır (Merget & Wolf, 2010).

Briyofitler, angiospermilerden sonra tür bakımından en zengin ikinci kara bitkisi grubudur ve bu nedenle bu bitki grubu için de kullanışlı barkodlama bölgeleri bulmak büyük önem taşımaktadır (Hassel vd., 2013). ITS2 briyofitlerin moleküler filogenetik ilişkisini tespit etmekte önemli bir araçtır (Liu vd., 2010) ve %77,4 oranında tür düzeyinde ayırt edici başarı göstermektedir (Yao vd., 2010). Ayrıca, çeşitli çalışmalarda bu bölgenin yüksek düzeyde performans sergilediği bildirilmiştir (Yi vd., 2018). Bu bağlamda, ITS2 briyofitler için güvenilir bir moleküler belirteç olarak kullanılabilir.

1.4. Kloroplast genomu

Kloroplastlar hem bitkilerde hem de belirli protistlerde fotosentez sürecini kolaylaştıran ve kendi küçültülmüş genomlarına sahip özel organelldir (Dobrogojski vd., 2020). Bu genetik materyal ağırlıklı olarak bitkilerin fotosentez yapabilmesi için gerekli olan genleri kapsar. Kloroplast DNA'sı (cpDNA) yaklaşık 150 kB büyüklüğündedir (Clegg vd., 1994) ve 100 işlevsel gene (Ajmal vd., 2014) sahiptir (Şekil 4). Ayrıca, tek ebeveynli kalıtım göstermektedir (Ajmal vd., 2014; Palmer vd., 1988).



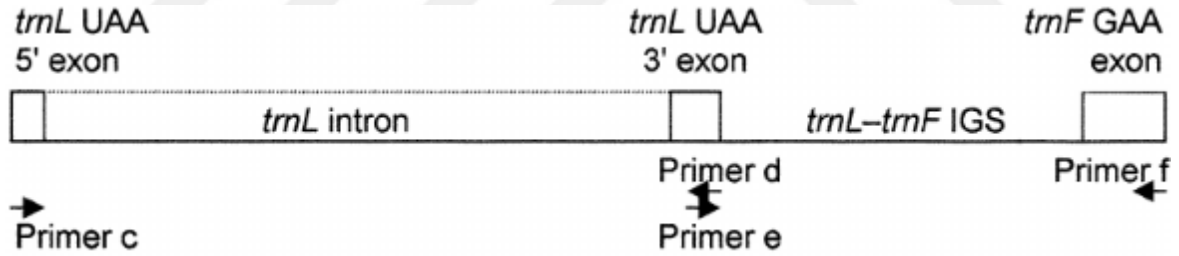
Şekil 3. Briyofit filogenetiğinde kullanılan kodlayan ve kodlamayan bölgelerin konumlarını gösteren cpDNA. (Stech & Quandt, 2010)

Kloroplast DNA (cpDNA)'sı bitkilerin moleküler evrimi ve sistematğinde çeşitli özelliklerinden dolayı önemli gen kaynakları sağlamaktadır (Chen vd., 2024). Küçük genoma sahip olması, mutasyon hızının düşük olması gibi avantajlarından dolayı bitkilerin filogenetik çalışmalarında önemli rol oynamaktadır (Clegg vd., 1994). cpDNA yakın akraba türlerin ayrıştırılmasında sınırlı ama eski ayrımların tespiti için uygun bir moleküler kaynaktır (Goffinet vd., 2004; Quandt ve Stech, 2004). Tek ebeveynli kalıtımından dolayı korunmuş özelliğindedir. Korunmuş olması, evrimsel süreçte yapısal ve fonksiyonel özelliklerin sabit kaldığını ifade eder. Türler arasında benzer fonksiyonları sürdürebilir. Ancak bu durum dezavantaja yol açabilir. Korunmuş yapısından dolayı türler arası düzeyde

DNA varyasyonu sınırlı olabilir (Palmer, 1988). Genetik değişikliklerinin veya çeşitliliğinin artmasını engellediği için bitki moleküler evriminde en doğru yaklaşımı sunmayabilir. Aynı zamanda sadece maternal soy çizgisini yansıttığı için cpDNA'nın tek başına kullanımında, melezleşme, genetik sürüklenme ve horizontal transfer gibi olaylara dikkat edilmesi gerekir (McCauley vd., 2007; Yan vd., 2018).

1.4.1. *trnL* İntron ve *trnL-F* Genler Arası Bölgesi

Kodlamayan bölgeler genellikle protein kodlayan bölgelere göre doğal seçilime daha az tabidir ve bu nedenle bitki evrimini incelemek için daha yararlı olabilir (Hao vd., 2009). *trnL* intronu ve *trnL-F* ara parçası, kısa uzunlukları ve evrensel primerleri sayesinde çoğaltılması ve dizilenmesi daha kolay olduğu için bitkilerde filogenetik çıkarımlarda avantaj sağlamaktadır (Bayer & Starr, 1998). Kodlamayan bölge *trnL* intron ve *trnL-F* intergenik aralayıcı kısmı kloroplast DNA'sında yer almaktadır (Bayer & Starr, 1998). Aşağıdaki şekil 4'de gösterilen *trnL* geni, bir grup L intronu ve *trnL-F* intergenik ara parçasından oluşur (Hao vd., 2009; Won & Renner, 2005).



Şekil 4. *trnL* intronu ve *trnL/F* intergenik aralayıcı (Taberlet, 1991)

trnT-trnL ve *trnL-F* bölgeleri, genler arası bölge (IGS) dizilerini içerir. Bu ara bölgeleri, korunmuş (konservatif) ve değişken bölgeleri bir arada bulundurdıkları için hem yakın akraba türler arasındaki hem de daha uzak akraba olan taksonlar arasındaki ilişkilerin analizinde etkilidir (Clegg vd., 1994). *trnL* intronu korunmuş bir ikincil yapıya sahiptir ve kara bitkileri arasında homolog olan elementler içerirken, ara parçalar uzunluk ve bileşim açısından oldukça değişkendir. Nükleotid çeşitliliğinin *trnL-F* bölgesi boyunca mekansal dağılımı, bu bölgenin farklı kısımlarının farklı evrimsel kalıplara sahip olduğunu göstermektedir (Hao vd., 2009).

Saç tokası yapıları oluşturan palindromik diziler *trnL*-F ara parçasında tespit edildi; ancak bu ara parçaların hiçbirisi tRNA genleri için promotör elementler içermiyordu. Promotörlerin yokluğu, *trnL*-F ara parçasında saç tokası yapılarının varlığı ve her iki ara parçasında da yüksek dizi varyasyonu, *trnT* ve *trnF*'nin bağımsız olarak transkripsiyona uğradığını göstermektedir (Won & Renner, 2005). Yüksek dizi varyasyonu, bu genlerin evrimsel süreçlerde daha esnek bir şekilde değişebilmesine ve adaptasyonun hızlanmasına yardımcı olur.

Çeşitli bitki türlerinin kloroplast DNA'sı içindeki *trnL* ve *trnL*-F lokuslarının sistematik düzenlenmesi, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yoluyla bu bölgelerin replikasyonunu kolaylaştırır. Evrensel primerlerin uygulanması, bu genetik segmentlerin çoğaltılmasının verimliliğini artırır, böylece deneysel araştırmalarda hızlı ve güvenilir sonuçların elde edilmesini sağlar. Bu özellik, özellikle filogenetik araştırma ve tür tanımlama bağlamlarında önemli bir fayda sağlar, çünkü bu lokuslar çeşitli bitki taksonlarında kullanılabilir ve genetik değişkenliği incelemek için pragmatik bir yaklaşım sunar. Ayrıca, *trnL* ve *trnL*-F geller arası bölgelerinin basit amplifikasyonu, kloroplast genomunun evrimsel çalışmalarını yürütmek için müthiş bir araç olarak hizmet eder (Taberlet vd., 1991). *trnL*-F ara bölgesi sağladığı birçok avantaj sayesinde briyofitlerin moleküler filogenetik çalışmalarında çokça tercih edilmiştir (Shaw vd., 2005).

1.5. nrDNA ve cpDNA'nın Birlikte Kullanımı

nrDNA'nın biparental aktarımı ve cpDNA'nın maternal kalıtımı birlikte kullanıldığında türleşmenin yönü ve evrimsel geçmiş hakkında tamamlayıcı bilgiler sunar (Shaw vd., 2005; Quandt ve Stech, 2005). ITS biparental kalıtıldığı için her iki ebeveynin genetik izlerini yansıtırken, cpDNA çoğunlukla maternal kalıtım gösterir ve yalnızca anne hattını temsil eder. Bu özellik, özellikle melezleşme süreçlerinin ve türleşme yönünün anlaşılmasında büyük önem taşır. ITS bölgesi daha hızlı bir evrim hızı sergilerken, cpDNA daha yavaş evrimsel değişikliklere uğrar, bu nedenle bu iki veri kümesinin entegre kullanımı hem tür düzeyinde farklılaşma hem de daha geniş taksonomik ilişkilerle ilgili sağlam ve kapsamlı evrimsel hipotezleri kolaylaştırır (Shaw vd., 2005; Quandt & Stech, 2004). İki genomun karşılaştırmalı analizi, tek lokus değerlendirmelerinde göz ardı edilebilecek melezleşme gibi fenomenleri aydınlatır ve böylece daha kapsamlı evrimsel süreçlerin saptanmasını sağlar (Shaw & Goffinet, 2000).

Bununla birlikte ITS ve cpDNA'nın birlikte kullanımının bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. ITS dizilerinde psödogen varlığı, uyumlu olmayan evrim ve poliploidi sorunları filogenetik yorumlamaları zorlaştırabilirken (Zhang vd., 2022), cpDNA'nın tek ebeveyninden aktarılması nedeniyle diğer ebeveynin genetik katkısı gözden kaçabilmektedir. Bu faktörler nükleer ve kloroplast genomu arasında cytonükleer (çekirdek-sitoplazma) uyumsuzluklara yol açarak farklı evrimsel senaryoları gündeme getirebilir (Rui-Yu, 2025; Xuan, 2019). Nitekim briyofitler üzerinde yapılan çalışmalarda bazı türlerin nükleer DNA'sı bir gruba, kloroplast DNA'sı ise başka bir gruba yerleşmiş ve bu durum geçmişteki melezleşme ve gen akışı süreçlerine bağlanmıştır (Shaw & Goffinet, 2000). Dolayısıyla ITS ve cpDNA'nın birlikte değerlendirilmesi, yalnızca filogenetik çözümlmeleri güçlendirmekle kalmaz, aynı zamanda briyofitlerde melezleşme ve retiküle (ağsı) evrim gibi karmaşık süreçlerin de ortaya konmasına katkı sağlar.

Ayrıca, nükleer ITS2 ve kloroplast bölgelerinin bir arada analiz edilmesi, tek lokuslu analizlere göre daha yüksek çözünürlük ve güvenilirlik sunmaktadır. Kombine analizler, özellikle bootstrap ve Bayesian Sonrası Olasılık (Bayesian Posterior Probability (BPP)) değerlerini artırarak filogenetik ağaçların daha sağlam bir şekilde desteklenmesine yardımcı olmaktadır (Shaw vd., 2005; Stech & Quandt, 2010). Bu nedenle, briyofitlerdeki moleküler filogenetik çalışmaların çoğunda bu iki markırın birlikte değerlendirilmesi tercih ediliyor. Bu nedenle, bu çalışmada da Doğu Karadeniz *Plagiomnium* türlerinin filogenetik ilişkilerini aydınlatmak için nükleer ITS ve kloroplast *trnL-F* bölgeleri birlikte kullanılmıştır.

1.6. Filogenetik Ağaç Oluşturma

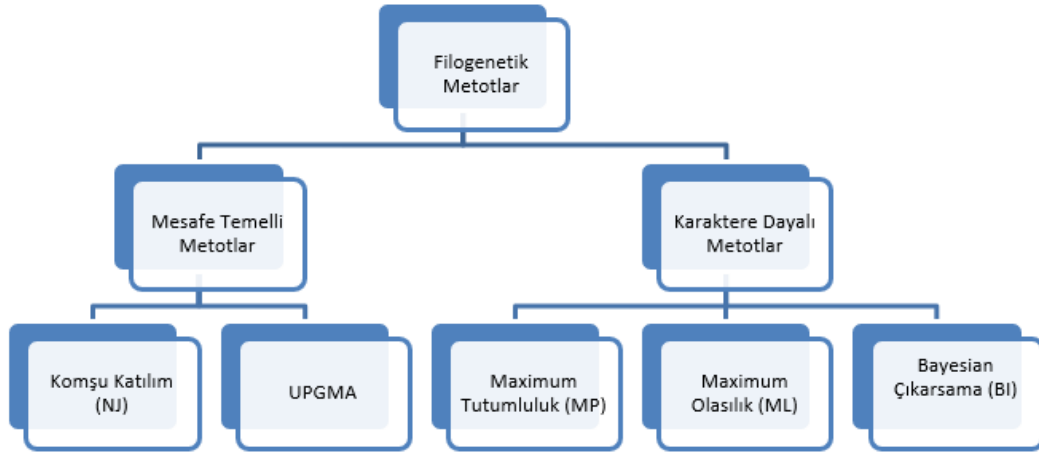
“Filogenetik”, tüm organizma grupları arasındaki evrimsel ilişkiyi ata-soy ilişkileri şeklinde ortaya çıkarmayı hedefler (Sarıçam & Müştak, 2015). Ayrıca; genler arası etkileşimi anlamada, ilaç tasarlamada, aşı çalışmaları yaparken patojen çeşitliliğini saptamada, genetik hastalıklar ve bulaşıcı hastalıkların epidemiyolojisinde, yeni bulunan gen görevlerinin tespitinde ve mikrobiyal ekoloji çalışmalarında filogenetik ağaçlardan faydalanılmaktadır (Pala, 2019).

Daha önce, türler arasındaki benzerlikleri değerlendirmek ve filogenetik ağaç oluşturmak için morfolojik özellikler kullanılmaktaydı. Haeckel (1866), öncelikle morfolojik özelliklere dayanarak yaşayan organizmaların ilk filogenetik ağacını oluşturdu (Podsiadlo & Polz-Dacewicz, 2013). DNA veya protein dizileri şeklindeki moleküler veriler

ışığında, organizmaların evrimsel perspektiflerini sağlamak için kullanışlıdır. Çünkü organizmalar evrimleştikçe, genetik materyaller zamanla mutasyonlar biriktirir ve bu da fenotipik değişikliklere yol açar. Genler, biriken mutasyonları kaydeden ortam oldukları için moleküler fosiller olarak hizmet edebilirler (Xiong, 2006).

Evrimsel ilişkileri görsel olarak ortaya çıkarmak için en uygun araç filogenetik ağaçların oluşturulmasıdır. Filogenetik ağaçlar, yapılan tüm dizileme çalışmalarının sonuçlarının daha net bir şekilde anlaşılması için görsel kolaylık sağlamaktadır (Pala, 2019). Tipik bir filogenetik ağaç, dalların düğümlerle bağlandığı bir yapıya sahiptir ve bunların düzenine ağaç topolojisi denir (Yang & Rannala, 2012). Dış düğümler, yani Operasyonel Taksonomik Birimler (OTU), analizde kullanılan DNA, protein dizilimlerini veya taksonları temsil eder. Çoğunlukla, ağaçlar dallarının uzunluklarını belirtecek şekilde oluşturulur (Podsiadlo & Polz-Dacewicz, 2013). Bir filogenetik ağaç köklü veya köksüz olabilir ve bu, evrimsel zamana karşılık gelen yönleri ifade eder, yani ağacın yapraklarındaki türler günümüzdeki türlerle ilişkilidir. (Munjal vd., 2019). Köksüz bir filogenetik ağaç, ortak bir atanın bilgisine dayanmaz, yalnızca taksonları, aralarındaki ilişkileri gösterecek şekilde yerleştirir. Hangi düğümün bir atayı temsil ettiğine dair bir gösterge olmadığından, köksüz bir ağacın evrimsel yolu yönü yoktur. Evrimsel yolun yönünü tanımlamak için bir ağacın köklü olması gerekir. Köklü bir ağacın tüm dizileri, incelenen dizilerin ortak bir atasına veya kök düğümüne sahip olup, bu kök düğümünden, diğer tüm düğümlere giden benzersiz bir evrimsel yol vardır (Xiong, 2006). Açıkça, köklü bir ağaç, köksüz bir ağaca göre daha bilgilendiricidir.

Filogenetik ağaçların yapısı ve türleri hakkında genel bir çerçeve çizildikten sonra, bu ağaçların oluşturulma süreci de önem kazanmaktadır. Moleküler filogenetik ağaç yapımı beş adıma ayrılabilir: moleküler işaretleyicilerin seçilmesi, çoklu dizi hizalaması yapılması, evrimsel modelin seçilmesi, ağaç inşa yöntemi belirlenmesi ve ağacın güvenilirliğinin değerlendirilmesi. Filogenetik ağaç oluşturma yöntemleri Şekil 5’de gösterildiği gibi mesafe temelli ve karakter temelli yöntemler olarak ikiye ayrılır (Yang & Rannala, 2012).



Şekil 5. Filogenetik analizde kullanılan yöntemlerin sınıflandırılması

1.6.1. Mesafe Temelli Metotlar

Mesafe tabanlı yöntemlerle filogeni tahmini, diziler arasındaki evrimsel mesafeyi belirlemeyi içerir; bu, çoklu hizalamalar temel alınarak ve mesafe matrisi tanımlanarak yapılır (Podsiadlo & Polz-Dacewicz, 2013). Mesafe algoritmaları, özellikle büyük takson kümeleri içeren veri setleriyle çalışan araştırmacılar için filogenilerin yeniden oluşturulmasında en popüler yöntemler arasında yer almaktadır (Desper & Gascuel, 2005). Karakter temelli yöntemlere göre çok daha az hesaplama gücü gerektirirler ve mutasyonları hesaba kattıkları için doğruluk payı yüksektir (Munjal vd., 2019).

Komşu Katılım (Neighbour Joining: NJ) metodu, belirli bir grup içindeki her bir ikilinin karşılaştırılmasıyla elde edilen aradaki farkı kullanarak ilgili grubun ağacını oluşturmada kullanılan yöntemdir. Türler arasında genetik mesafesi en az olan ikililer birleştirilerek bir ağaç meydana gelmesi amaçlanır (Pala, 2019). Bu yöntem ile sadece bir tane ağaç oluşturulur ve diğer olası ağaç topolojileri test edilmez.

Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Gruplama Yöntemi (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean: UPGMA) ise tüm soylarda sabit bir evrim oranı varsayan hiyerarşik bir kümeleme yöntemidir ve bu varsayımın doğru olduğu veri kümeleri için uygundur. En küçük çiftler arası mesafelere sahip kümeleri sırayla birleştirerek ve tüm taksonlar ağaca dahil edilene kadar her adımda mesafe matrisini yeniden hesaplayarak köklü bir ağaç oluşturur (Kaur & Kaur, 2024). UPGMA algoritması, ağacın eklemeli (her iki düğüm arasındaki mesafenin, onları birbirine bağlayan dalların toplam uzunluğuna eşit olduğu) ve ultrametrik (tüm OTU'lar kökten aynı mesafededir) olduğunu varsayar. Bu, tüm

farklı türlerin evriminin aynı hızda gerçekleştiğini belirten moleküler saat hipotezini uygular (Podsiadlo & Polz-Dacewicz, 2013).

Mesafe algoritmaları, karakter veya olasılık algoritmalarına göre pratikte çok daha hızlıdır ve en küçük kareler algoritmaları, istatistiksel açıdan birkaç arzu edilen özelliğe sahip ağaçlar üretir (Desper & Gascuel, 2005).

1.6.2. Karaktere Dayalı Metotlar

Karakter tabanlı yöntemler, tüm dizileri aynı anda karşılaştırarak her seferinde bir karakteri veya bölgeyi dikkate alır (Munjal vd., 2019). Her bir dizinin hizalanmasındaki her pozisyondaki karakterlere ve bir evrim modeline dayalı olarak belirli bir dizi seti için en olası ağacı arar. En yaygın karakter temelli yaklaşımlar, maksimum tutumluluk (MP) maksimum olabilirlik (ML) ve daha az ölçüde Bayesian çıkarsama (BI) yöntemlere kadar geniş bir yelpazeye sahiptir (Sleator, 2011; Yang & Rannala, 2012).

Maksimum tutumluluk, en az evrimsel değişikliğe sahip veya en kısa toplam dal uzunluklarına sahip bir ağaç seçer. MP ile ağaçların oluşturulmasında “kesin” ve “olası” yaklaşımlar söz konusudur. Kesin yaklaşımda olabilecek tüm ağaçlar gözden geçirilir ve kullanılan optimalite ölçütüne en uygun ağaç belirlenir (Pala, 2019). Her iki yaklaşım da en iyi skora sahip ağacı dikkate alır ve hizalamayı gerçekleştirmek için en az sayıda değişikliği gerektiren ağacı seçer. Bu görüş, evrimsel değişikliklerin makul bir zaman diliminde nispeten nadir olduğuna dayanarak haklıdır. Bu, minimal değişikliklere sahip bir ağacın, doğru ağacın iyi bir tahmini olacağı anlamına gelir. Evrim oranlarının homojen olduğu kabul edildiğinden kaynaklı tutarsız sonuçlar verebilir (Kolaczkowski & Thornton, 2004). Değişikliklerin en aza indirilmesi, homoplazi ve bağımsız evrim nedeniyle filogenetik gürültüyü minimize eder (Xiong, 2006).

Maksimum olabilirlik, parametreler verildiğinde verilerin olasılığı olarak tanımlanır, ancak veriler gözlemlenmiş ve sabit kabul edilerek parametrelerin fonksiyonu olarak değerlendirilir. Bu fonksiyon, parametreler hakkında verilerde bulunan tüm bilgiyi temsil eder (Yang & Rannala, 2012). Maksimum olabilirlik (ML) tahmini, istatistiksel çıkarım için tartışmasız en yaygın kullanılan yöntemdir (Bryant vd., 2007). Model varsayımları tam karşılanmasa bile (Sullivan & Swofford, 2001) gerekli veri olduğunda doğru filogenetik sonuçlar sunmaktadır (Felsenstein, 1978). Huelsenbeck, (1995) çalışmasında maksimum

olabilirlik yöntemlerinin filogenetik çıkarımda en güvenilir sonuçları verdiğini tespit etmiştir.

Bayesian Çıkarsama (BI), istatistiksel çıkarımın genel bir metodolojisidir. ML'den farklı olarak, modeldeki parametreler rastgele değişkenler olarak kabul edilir ve istatistiksel dağılımlara sahiptir, oysa ML'de parametreler bilinmeyen sabitlerdir. Verilerin analizi öncesinde, parametrelere birinci dağılım (önsel dağılım) atanır, bu da verilerle (olabilirlik) birleştirilerek ikinci dağılım (soraki dağılım) oluşturur (Yang & Rannala, 2012). BI'nin özü, gözlemler üzerinden gözlemlenmeyen bir şey hakkında çıkarım yapmaktır. Sonrasal olasılık, veriler hakkında yeni bir şey öğrenildikten sonra, önceki beklentilerden revize edilen olasılıktır. Bu topolojilerin her birinin olasılığı, ağaç oluşturulmadan önce eşittir. Koşullu olasılık ise, dizi hizalamasından gözlemlenen karakterlerin yerine geçme sıklığıdır. Bu iki bilgi, Bayesian algoritması tarafından, gözlemleri en iyi şekilde tatmin eden en olası ağaçları aramak için bir koşul olarak kullanılır (Xiong, 2006). Parametrelerle ilgili tüm çıkarımlar daha sonra sonrasal dağılıma dayanır. Son iki on yılda, özellikle Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) algoritmalarındaki ilerlemeler sayesinde Bayesian çıkarsama popülerlik kazanmıştır (Yang & Rannala, 2012).

1.6.3. Çoklu Dizi Hizalaması ve Evrimsel Modelin Seçilmesi

İki dizi arasındaki farklılıkları ölçerken, gözlemlenen ikame sayısı her zaman gerçek evrimsel süreci doğru yansıtmaz, çünkü bir nükleotit, gözlenen son haline ulaşmadan önce birden fazla ara mutasyon geçirmiş olabilir. Ayrıca, ters mutasyonlar veya paralel mutasyonlar nedeniyle, farklı dizilerde aynı nükleotit görülse bile bu durum ortak bir atadan gelmek yerine bağımsız mutasyonlarla oluşmuş olabilir. Bu tür çoklu değişim ve yakınsak mutasyonlar, diziler arasındaki gerçek evrimsel mesafeyi olduğundan az göstererek yanlış filogenetik ağaçların oluşturulmasına neden olabilir. Bu etki homoplazi olarak adlandırılır ve uygun modellerle düzeltilmezse evrimsel ilişkilerin hatalı yorumlanmasına yol açabilir (Xiong, 2006).

Evrimin yeniden inşası oldukça zor bir görevdir. Nükleotit ikame modelleri, evrimi daha iyi anlamayı ve organizmalar arasındaki ilişkileri daha güvenilir bir şekilde gösteren ağaçların oluşturulmasını sağlar. Jukes ve Cantor (JC69) tarafından geliştirilen model, herhangi bir ikame olasılığının her dizilim pozisyonunda eşit ve aynı olduğunu varsayan, dizilim evriminin en basit ve tek parametrelili modelidir (Podsiadlo & Polz-Dacewicz, 2013).

K80 modeli, transisyonlar ve transversiyonlar için farklı oranlar varsayar. Her iki model de dört nükleotidin eşit frekanslarını öngörür (Yang & Rannala, 2012). Bu, biyolojik olarak daha gerçekçi bir yaklaşımdır çünkü geçişlerin dönüşümlere göre daha sık meydana geldiği bilinir. Kimura modeli, Jukes–Cantor modeline göre daha doğru evrimsel mesafe tahminleri sağlar çünkü mutasyon türleri arasındaki farkları dikkate alır (Xiong, 2006). Tablo 1’ de en sık kullanılan evrimsel modeller verilmiştir.

Tablo 1. Bazı yaygın kullanılan yer değiştirme modellerinin özeti. a: $A \leftrightarrow C$, b: $A \leftrightarrow G$, c: $A \leftrightarrow T$, d: $C \leftrightarrow G$, e: $C \leftrightarrow T$, f: $G \leftrightarrow T$ ((Felsenstein, 1985))

Model	Parametre Sayısı	Yer Değiştirme Oranı
JC69	1	$a=b=c=d=e=f$
K2P	2	$a=c=d=f, b=e$
F81	4	Dahil değil
HKY85	6	$a=c=d=f, b=e$
GTR	10	a, b, c, d, e, f

Şu anda, filogenetik analizlerde uygulama için en uygun evrimsel modeli belirlemek için ModelTest (Posada & Crandall, 1998), JModelTest (Posada, 2008) ve MEGA (Tamura vd., 2021) gibi hesaplama araçları kullanılmaktadır. Model uyumunun değerlendirilmesi Akaike Bilgi Kriteri (AIC) ve Bayesian Bilgi Kriteri (BIC) kullanılarak gerçekleştirilir. Ek olarak, mesafe, maksimum tutarlılık, maksimum olabilirlik ve Bayes yaklaşımları içeren metodolojiler sıklıkla PAUP* (Swofford, 2001), RAxML (Stamatakis, 2014), MrBayes (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) ve BEAST (Drummond & Rambaut, 2007) gibi yazılım platformları aracılığıyla uygulanır.

1.6.4. Filogenetik Ağaçların Değerlendirilmesi

Filogenetik ağaç yapımı sonrasında bir sonraki adım, türetilen filogenisini istatistiksel olarak değerlendirmektir. İki önemli soru ele alınmalıdır. Birincisi, ağacın ya da ağacın bir kısmının ne kadar güvenilir olduğudur; ikincisi ise, bu ağacın başka bir ağaçtan anlamlı bir şekilde daha iyi olup olmadığıdır.

Filogenetik ağaçlandırma yapmak için birçok seçenek mevcuttur. Bu seçeneklerin güvenilirliğini test etmek için bootstrap (seç-bağla) testi kullanılır. Bootstrap bir filogenetik ağacın örnekleme hatalarını test eden istatistiksel bir tekniktir (Xiong, 2006). Amaç, yeni yapılan ağacın yanlış hizalama ya da mesafe ölçümlerindeki rastgele dalgalanmalardan ötürü hatalı olabileceğidir. Orijinal verilerden yeniden örneklemeler yaparak her bir örneği tekrar

tekrar analiz eder. Gerçekten sağlam bir filogenetik ilişki, veri seti bu şekilde değiştirildiğinde bile bu ilişkiyi destekleyecek kadar karaktere sahip olmalıdır. Aksi takdirde, yeniden örnekleme sürecinde eklenen gürültü, farklı ağaçların oluşmasına yol açacak kadar güçlüdür, bu da orijinal topolojinin zayıf filogenetik sinyallerden türemiş olabileceğini gösterir. Bu tür bir analiz, ağacın topolojisinin istatistiksel güven düzeyine dair bir fikir verir (Xiong, 2006). Bir monofiletik grubun bootstrap testi %70 ve üzeri çıkarsa istatistiksel olarak anlamlı kabul edilir (Hillis & Bull, 1993).

Bootstrap, orijinal seti üzerinde yapılan küçük değişiklikler ve yeniden örnekleme işlemlerine dayanır. İki farklı yeniden örnekleme stratejisi vardır. Birincisi, tüm nükleotit pozisyonlarından rastgele seçim yaparak yeni bir hizalama oluşturulması işlemi olan parametrik olmayan bootstrappingdir. Bu süreç, veri setinin büyüklüğüne ve analizinin özelliklerine bağlı olarak genellikle 1.000 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilir (Sleator, 2011). Diğer bir seçenek ise, veri setinin belirli bir dizi dağılımına (evrimsel modele) uyduğu varsayılarak yeni veri setlerinin oluşturulmasıdır; buna parametrik bootstrapping denir. Her iki bootstrapping türü de mesafe, tutumluluk ve olabilirlik ağaç oluşturulması yöntemlerine uygulanabilir (Xiong, 2006).

1.7. Morfolojik Veriler

Plagiomnium cinsine ait karayosunları geçmişten günümüze kadar morfolojik verilere dayalı olarak anahtar karakterleri kullanmak suretiyle klasik morfo taksonomik yöntemle teşhis edilmiştir (Koponen, 1968, 1971). Türkiye için henüz yazılı bir Türkiye Briyofit Florası olmadığından, *Plagiomnium* tür taksonları için genelde ilgili flora kitaplarından ve revizyonel çalışmalardan makroskobik ve mikroskobik özelliklerinin yer aldığı resimler ve fotoğraflardan yararlanılarak teşhisleri yapılmaktadır (Smith, 2004; Frey vd., 2006).

Morfolojik verilerden yararlanılarak yapılan teşhis çalışmalarında makroskobik özellikler gametofit morfolojisine ve gövde yapısına dayalı belirgin karakterlerle mümkündür. Türler gametofit şekli, yaprak kenarlarının dişlenme biçimi, yaprak kenarındaki bordür hücrelerin şekli ve sayısı, yaprak ortası hücre boyutu, yaprak yüzeyinin dalgalanma durumu ve yaprak apeksinin sivrililiği gibi özellikler bakımından birbirinden ayırt edilmektedir. *Plagiomnium* cinsinin gametofiti parlak ve yeşil renkte olup genellikle eliptik, lingulat, geniş-oval veya spatulat şeklinde görünmektedir. Bazı türlerde yaprak kenarındaki dişlenme tüm kenar boyunca uzanırken, bazı türlerde yalnızca yaprağın üst yarısında

sınırlıdır. Yaprak apeksi genellikle sivridir ve boyutları türler arasında değişkenlik gösterir (Smith, 2004).

Mikroskobik karakterler ise, gametofitin anatomik yapısı, laminal hücre morfolojisi, bordür hücre dizilimi ve diş yapılarına dayanmaktadır. *Plagiomnium* türlerinde laminal hücreler genellikle izodiametrik ya da hafifçe uzamış dikdörtgen formdadır. Hücreler düzenli sıralanmış, sıkı yapılı olup hücre duvarları mikroskop altında belirgin biçimde izlenebilmektedir. Hücre duvarları çoğunlukla incedir; ancak bazı türlerde hücre köşelerinde kalınlaşma gözlenebilir. Hücre boyutları türe bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle 30–80 µm uzunluğunda ve 15–40 µm genişliğindedir (Smith, 2004).

Bordür hücreleri *Plagiomnium* cinsi için ayırt edici karakterdir. 1-4 sıra boyunca devam eden, uzun ve dar hücrelerden oluşur. Laminal hücrelere göre duvarları daha kalındır ve boyuna uzanırlar. Bazı türlerde yaprak hücreleri birbirine teğet ederken bazı türlerde belirgin şekilde ayrılmıştır. Yaprak kenarlarında yer alan dişler yalnızca varlıklarıyla değil, yapısal farklılıklarıyla da tür ayrımında kullanılır. Dişler genellikle 1–4 hücreden oluşur, keskin uçlu ve ince yapılıdır. Dişlerin yerleşimi, boyutu ve hücresel yapısı *Plagiomnium* türlerinin mikroskobik düzeyde tanımlanmasında önemli rol oynar (Wyatt, 1988; Koponen, 1968; Frey vd., 2006).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Morfolojik Çalışmalar

Morfolojik çalışmalar Doğu Karadeniz bölgesinde (Artvin-Giresun-Trabzon) yayılış gösteren bazı *Plagiomnium* taksonları üzerine gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda ülkemiz taksonlarına ait teşhis anahtarı, makroskobik ve mikroskobik özellikleri, resimleri ve ilgili tür taksonları ile karşılaştırmaları yapılarak verilmiştir.

2.1.1. Işık Mikroskobu Çalışmaları ve Analizi

a. Teşhisi yapılacak örnekler için, içi su dolu temiz bir petri kabında ısıtıldıktan sonra, ince uçlu pens, cımbız ve jilet yardımı ile trioküler stereo mikroskop altında inceleme preparatları hazırlanmıştır. Her türde farklı olan bitkileri teşhis etmekte kullanılan ayırt edici anahtar karakterleri (örneğin; yaprak enine kesiti, kapsüldeki stoma, yaprak ortası hücreleri şekli ve yapısı, yaprak dip köşe hücreleri varlığı yokluğu varsa şekli, yaprak kenarının düz ya da dişli olması dişli ise dişin şekli ve konumu gibi) gösteren bitki kısımlarından stereomikroskop altında incelemek üzere preparat hazırlanmıştır. Carl Zeiss Axio Imager A2 trioküler ışık mikroskobunda incelenmiştir. İncelenen örneklerin ayırt edici mikroskobik fotoğrafları, cep telefonu aracılığıyla fotoğraflanmıştır. Tez çalışmasında kullanılan bu fotoğrafların düzenlenmesi ise Adobe Photoshop 2025 ve Photoshape programları ile yapılmıştır.

b. Preparasyonu yapılan örnekler, elde henüz yazılı bir Türkiye Briyofit Florası olmadığı için, teşhislerinde temel olarak İngiltere-İrlanda florası (Smith, 2004) ve diğer Avrupa ülkelerine ait flora eserleri (Smith, 2010) ve diğer Avrupa ülkelerine ait flora eserleri (Cortini Pedrotti, 2001; Frey vd., 2006; J. Guerra & Sociedad Espanola de Briologia, 2006) kullanılmıştır.

Doğu Karadeniz *Plagiomnium* yosunları için sistematik düzenleme ve yeni kayıt durum değerlendirmeleri için kontrol Erdağ ve Kürschner 2017; kontrol listeleri gözden geçirilerek karar verilmiştir. Ek olarak iller bazında yeni kayıt durumu değerlendirilmesi Abay ve Ursavaş 2019; Ayhan vd., 2024; Batan vd., 2021; Batan vd., 2024; Batan ve

Özdemir 2013; Erata vd., 2017; Erata vd., 2021; Özdemir ve Batan 2017; kontrol listelerinden veya yayınlanmış çalışmalardan yararlanılarak yapılmıştır.

c. Bitkilerin teşhisi için, öncelikle yaprağından, daha sonra gövdesi ve rizoidleri ile varsa sporofitin kapsül kısmından oluşturulacak mikroskopik preparasyonlar hazırlanmıştır. İnceleme esnasında teşhis anahtarlarından faydalanırken aşağıdaki karakterler dikkate alınarak teşhisler tamamlanmıştır. Teşhis çalışmalarında kullanılan özelliklerden bazıları;

- Gövdenin dallanma durumu (Akrokarp yosunlarda gövde dallanmamış olup, pleurokarp yosunlarda gövde dallanmıştır)
 - Kapsüllerin çıktığı bitki kısımları (Akrokarp yosunlarda kapsüller bir gövde veya yaprağın tepe kısmından, pleurokarp yosunlarda ise bir gövde veya yaprağın yan kısmından çıkar)
 - Hücrelerin kısa veya geniş – uzun veya dar olma durumu (Akrokarp yosunlarda genellikle kısa ve geniş, pleurokarp yosunlarda ise uzun ve dar hücreler mevcuttur)
 - Yaprak tabanında angular veya alar hücrelerin mevcut olup olmayışı
 - Şayet gelişmiş ise kapsülün boyun bölgesinin uzunluğu
 - Kapsülün seta üzerine (apofize) tutunma acısı (durumu)
 - Gövdenin uzunluğu
 - Kapsül kapaklarının açılma durumu, derecesi, şekli
 - Kapsül kapaklarının şekli
 - Kapsül ağzının altında meydana gelen kasılma (büzülme) miktarı
 - Kapsül ağzını çevreleyen dış halkası (peristom)'um mevcut olup olmayışı
 - Yaprak büyüklüğü
 - Yaprak genel şekli
 - Yaprak kenarının özelliği (düz ya da dişli olması dişli ise dişlerin şekli, sıklığı ve büyüklüğü)
 - Yaprak apeks (uç) kısmın şekli
 - Yaprakların gövde üzerindeki dizilişleri
 - Bitkilerin yetiştiği habitat (kaya üzeri, ağaç gövdesi, toprak üzeri, dere kenarı, vs.)
 - Setanın rengi
 - Setanın uzunluğu
 - Sporların genel şekli ve dış kısmındaki girinti ve çıkıntılar

- Habitat: Bitkilerin yaşadığı habitat teşhiste önem taşımaktadır.
- Gametofit:
 - Gametofitin genel görünüşü (şekli, büyüklüğü, rengi vb.)
 - Gövde ve yan dalların durumu (şekilleri, boyları, dallanma tipleri vb)
 - Gövde ve yaprak enine kesit
 - Yaprığın şekli ve gövdeye bağlanma biçimi
 - Hücreler (Yaprak uç kısmındaki, yaprak ortasındaki ve yaprak taban kısmındaki angular hücrelerin şekli ve büyüklüğü vb.)
 - Yaprak kenarında dişlerin varlığı ya da yokluğu varsa şekli

2.1.2. Morfolojik Veri Analizi

Bu çalışmada, öncelikle her bir türe ait yaprak morfolojisine dair gözlemlenen yaprak uzunluğu, yaprak genişliği, diş varlığı, hücre boyutları, bordür genişliği gibi morfolojik karakterler nicel ve nitel olarak tanımlanmış ve sayısal forma dönüştürülerek Excel (Microsoft Office 365) ortamında bir veri matrisi oluşturulmuştur. Yedi *Plagiomnium* türü arasındaki morfoloji temelli filogenetik ilişkiler, Ward'ın bağlantı yöntemi ve Öklidyen mesafe ölçütlerinin kullanıldığı çok değişkenli hiyerarşik kümeleme analizi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Temel bileşenler Analizi (PCA) yardımıyla, karakterlerin varyans açıklayıcı bileşenleri belirlenmiş, morfolojik çeşitliliğin iki temel bileşen düzlemine indirgenmesini sağlanmış, bu sayede türlerin karakter temelli dağılımları görselleştirilmiştir.

Ayrıca, morfolojik karakterlere dayalı olarak oluşturulan 1-0-2 matrisi [Yaprak Şekli (0 = eliptik/oval, 1 = lingulat/dil), Diş Tipi (0 = çok hücreli, 1=çok hücreli üst durumlu, 2 = tek hücreli), Bordür Sayısı (0 = 1-2, 1 = 2-3, 2 = 3-4), Laminall Hücre Şekli (0 = altıgen, 1 = yuvarlak) ve Yaprak Dalgalanması (0 = yok, 1 = var)] kullanılarak türler arasındaki benzerlik ilişkilerini ortaya koymak üzere MEGA 11 programı altında Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi (UPGMA) algoritması yardımıyla hiyerarşik kümeleme analizi gerçekleştirilerek dendrogram oluşturulmuştur.

2.2. Moleküler Çalışmalar

2.2.1. Yapraklardan Toplam DNA Eldesi

DNA eldesi, yaprak örneklerinden Doyle ve Doyle (1987)'nin Tablo 2'de verilen Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) izolasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstre edilen DNA örnekleri PCR uygulamalarına geçilinceye kadar +4°C de saklanmıştır.

Tablo 2. CTAB DNA İzolasyon Aşamaları

CTAB PROTOKOLÜ	
1)	0.025 g kuru yaprak(gametofit) alınır.
2)	Örnek öğütülür.
3)	500 µL CTAB eklenir. (içine 0.02 g PVPP ve 2.5 µL B-mercaptoetanol eklenir).
4)	65° 4 saat örnekler bekletilir. (15 dk da bir karıştırılır.)
5)	Örnekler buz üzerine alınır ve 1 dk bekletilir. Sonra 14000 ya da 10000 rpm de 1 dk santrifüj edilir.
6)	Santrifüj sonrası örnekler 500 µL kloroform eklenir ve tüpler homojen olana kadar alt üst edilir.
7)	5 dk önceki hızda santrifüj edilir. Santrifüj sonrası süpernatant kısımları yeni tüplere aktarılır.
8)	Tüplerden hacmi en fazla olan seçilir ve kapasitesi belirlenir.
9)	Hacmin %8 kadar (32 µL) amonyum asetat ilave edilir.
10)	Oluşan hacmin %54 (240 µL) kadar isopropanol ilave edilir.
11)	Süspansiyon iyice karıştırılır. +4°C'de 1 gece bekletilir.
12)	3 dk önceki hızda (14000 ya da 10000 rpm) santrifüj edilir. Süpernatant dökülür. Şeffaf pelet üzerine 1000 µL %70'lik alkol ilave edilir. Altüst edilerek pellet hareket ettirilir.
13)	3 dk aynı hızda santrifüj edilir.
14)	Sıvı etanol kısımları pipetler yardımıyla çekilir ve atılır.
15)	Örnekler 30-45 dk vakumda kurumaya bırakılır.
16)	Kuruyan örnekler üzerine 50 µL 1XTE ilave edilir.
17)	Örnekler 15 dk 65°C su banyosunda tutulur.

2.2.2. PCR Uygulaması

Plagiomnium türlerinden izole edilen DNA örneklerinden ITS2 ve *trnL*-F bölgesinin amplifikasyonu için Tablo 3'te verilen evrensel primerler kullanılmıştır.

Tablo 3. ITS2 ve *trnL*-F bölgelerinin amplifikasyonunda kullanılan evrensel primerler

Bölge	Primer adı	Dizilim (5' → 3')	Kaynak
ITS2	M-ITS2-F	CATTTCCGTTAGAGCGTCACC	(Yi vd., 2018)
ITS2	M-ITS2-R	TCTTTTCCGATTAGAGGTC	(Yi vd., 2018)
<i>trnL</i> -F	<i>trnL</i> -c	CGAAATCGGTAGACGCTACG	(Taberlet vd., 1991)
<i>trnL</i> -F	<i>trnL</i> -f	ATTTGAACTGGTGACACGAG	(Taberlet vd., 1991)

Çift zincirli DNA üzerinden ITS2 ve *trnL*-F bölgelerinin çoğaltılması, Tablo 4’de yer alan reaksiyon bileşenleri ve Tablo 5’da belirtilen PCR koşulları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm PCR reaksiyonları, gradient özellikli Biorad T100 Isıl Döngü Cihazı (Bio-Rad, Hercules, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. ITS2 ve *trnL*-F bölgeleri için PCR reaksiyon bileşenleri (50 µl son hacim)

Bileşen	ITS2 hacmi	<i>trnL</i> -F hacmi
5X reaksiyon tamponu	10 µl	10 µl
2.5 mM MgCl ₂	3,5 µl	4 µl
0.25 mM dNTP	20 µl	20 µl
Primerler (F&R) (50 ng/µl)	1 µl (her biri)	1 µl (her biri)
Go Taq Flexi DNA polimeraz (Promega)	0.25 µl	0.25 µl
Kalıp DNA	2 µl	4 µl
Distile Su	12,25 µl	9,75 µl
Toplam	50 µl	50 µl

Tablo 5. ITS2 ve *trnL*-F bölgeleri için PCR amplifikasyon koşulları

Aşama	ITS2 Sıcaklık/Süre	<i>trnL</i> -F Sıcaklık/Süre
Ön Denatürasyon	94 °C-5 dk	95 °C-5 dk
Denatürasyon	94 °C-30 sn	94 °C-30 sn
Bağlanma	46,5 °C-30 sn	51,5 °C-40 sn
Uzatma	72 °C-30 sn	72 °C-1 dk
Döngü Sayısı	35	35
Son Uzatma	72°C-5 dk	72°C-5 dk

2.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerinin elektroforezi, 5 µl yükleme tamponu (%50 gliserol, %0,05 bromofenolblue, 0,2 M EDTA) eklenerek agaroz jel ortamında yapılmıştır. %1’lik agarozda, 1 X TAE (Trizma Base, Glacial Asetik Asid, EDTA) tamponunda 30 dk süre ile 96 voltta yürütülen örnekler, 0,25 µg/ml etidium bromid ile boyandı. DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyon başarısı agar jel elektroforezi ile yürütmenin ardından etidyum bromür ile boyanarak UV aydınlatma altında amplifikasyonu bir Gel-Doc sisteminde (BIO-RAD, Moleküler Görüntüleyici, Gel DocTM XR) görüntülenmiştir.

2.2.4. DNA Dizi Analizi

Elde edilen PCR ürünleri Macrogen Europe merkezinde (Macrogen Inc., Amsterdam, Hollanda) saflaştırıldı, ileri ve geri amplifikasyon primerleri ile ABI 3730xl DNA Analizöründe BigDye Terminator v3.1 Döngü Dizileme Kitleri (Applied Biosystems) kullanılarak dizilenmiştir.

2.2.5. Dizi Hizalama ve Genetik Mesafeler

Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde dağılım gösteren *Plagiomnium* örneklerine ait nrDNA ITS2 ve cpDNA *trnL-F* bölgesi dizileri Bioedit (Tamura vd., 2021) programı kullanılarak manuel olarak düzeltildi, yine bu program altındaki ClustalW algoritmasıyla (Thompson vd., 1994) hizalandı ve NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool) servisi kullanılarak GenBank'ın nükleotit veri tabanlarında bulunan dizilerle karşılaştırılmıştır. *Plagiomnium* örneklerine ait nrDNA ITS2 ve cpDNA *trnL-F* bölgelerini kullanarak tür içi ve türler arası genetik mesafeler, MEGA11 (Tamura vd., 2021) yazılımı altında çalıştırılan *p-distance* evrim modeli ve 1000 tekrarlı olarak hesaplanmıştır.

2.2.6. Filogenetik Analizler

Bu çalışmada elde edilen *Plagiomnium* türlerinin filogenetik ilişkilerini analiz etmek için Komşu Katılım (NJ), Maksimum tutumluluk (MP), Maksimum olabilirlik (ML) ve Bayesian çıkarsama (BI) analizleri gerçekleştirilmiştir. ML ve BI analizlerinde kullanılmak üzere jModelTest v2.1.10 (Darriba vd., 2012) yazılımı yardımıyla sırasıyla Akaike Bilgi Kriteri (AIC) ve Bayesian Bilgi Kriteri (BIC) değerlerine dayalı olarak nrDNA ITS2 (seçilen model: HKY+F+G4, -lnL = -1587.2714, AIC score = 3250.5427, BIC score = 3389.8669, K = 47, freqA = 0.1941, freqC = 0.2710, freqG = 0.3318, freqT = 0.2031, kappa = 6.0396 (ti/tv = 2.7490), p-inv = 0.7610), cpDNA *trnL-F* (seçilen model = HKY+F+I, partition = 010010, -lnL = -805.2994, AIC score = 1690.5988, BIC score = 1848.4156, K = 47, freqA = 0.3557, freqC = 0.1551, freqG = 0.1882, freqT = 0.3009, kappa = 6.0396 (ti/tv = 2.7490), p-inv = 0.7610) ve birleştirilmiş veri seti (BIC: Model = K2P+G4, partition = 012314, -lnL = -2819.4988, BIC score = 5895.1526, K = 50, freqA = 0.2801, freqC = 0.2268, freqG = 0.2291,

freqT = 0.2640 , gamma shape = 0.3347, AIC: TVMe+G4, partition = 010212, -lnL = -2810.7885, K = 45, gamma shape = 0.3570) için uygun evrimsel modeller belirlenmiştir.

Komşu Katılım (NJ) analizine dayalı filogenetik ağaçlar MEGA12 programı altında çalıştırılan Kimura Two Parameter (K2P) algoritmasına dayalı olarak oluşturulmuştur. Maksimum tutumluluk analizleri, PAUP (Swofford, 2001, PAUP; Filogenetik Analiz Parsimony Sürüm 4.0 d81, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler, ağaç ikiye bölme-yeniden bağlanma dal takası (Tree Bisection and Reconnection, TBR), algoritmasına dayalı sezgisel (heuristic) bir arama stratejisi kullanılmış ve 1000 tekrarlı bootstrap analizi uygulanmıştır. Maksimum olabilirlik (ML) algoritmasına dayalı filogenetik analizleri, adresindeki MABLIRMM web sunucusunda (<http://phylogeny.lirmm.fr>) yer alan PhyML 3.0 (Guindon vd., 2010) programı kullanılarak, seçilen en uygun evrimsel model altında ve elde edilecek ağaçlar dallanma destek değerleri 1000 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Bayesian çıkarsama (BI) analizleri BEAST versiyon 2.6.7 (Bouckaert vd., 2019) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fasta formatında hizalanmış veriler analiz için BEAUti v2.6.7 ara yüzü aracılığıyla BEAST yazılımının tanıyabileceği XML dosyasına dönüştürülmüştür. Her iki DNA bölgesi için en uygun nükleotit değişim modeli, BIC değerleri esas alınarak belirlenmiş ve ilgili model parametreleri analiz dosyasına entegre edilmiştir. Moleküler evrim oranlarının değişkenliğini belirlemek için, ilişkisiz, gevşetilmiş lognormal moleküler saat modeli (Drummond vd., 2006) tercih edilmiştir. Filogenetik ağaç topolojisinde, türler arasındaki dallanma olaylarını modelleyen Yule Süreci (Gernhard, 2008) kullanılarak türleşme süreci zaman içinde değerlendirilmiş ve dallanma oranları topolojide gösterilmiştir. BI posterior olasılıkları Markov Zincir Monte Carlo (MCMC) örnekleme yaklaşımı kullanılarak tahmin edilmiştir. Analiz, toplam 40 milyon nesil boyunca çalıştırılarak 1×10^4 filogenetik ağaç örneklenmiştir. Elde edilen örneklerin ilk %25'lik kısmı yakınsama öncesi veri olarak kabul edilerek “burn-in” aşamasında analiz dışında bırakılmıştır. Posterior kesitten elde edilen ağaçlardan en fazla desteklenen dallanmayı sağlayan maksimum clad credibility (MCC) ağacı TreeAnnotator yazılımı ile özetlenmiş ve son olarak filogram FigTree v1.4.4 programı ile birleştirilmiş halde görselleştirilmiştir. *Plagiomnium* genusu ile yakın taksonomik ilişkili olan ve daha önce ilgili dizileri Genbank'a girilen (GenBank erişim numarası: nrDNA ITS2 için GenBank giriş no: AY078291, *trnL-F* için GenBank giriş no: EU878193) *Bryum argenteum* Hedwig, 1801 filogenetik analiz için dış grup olarak kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Morfolojik Bulgular

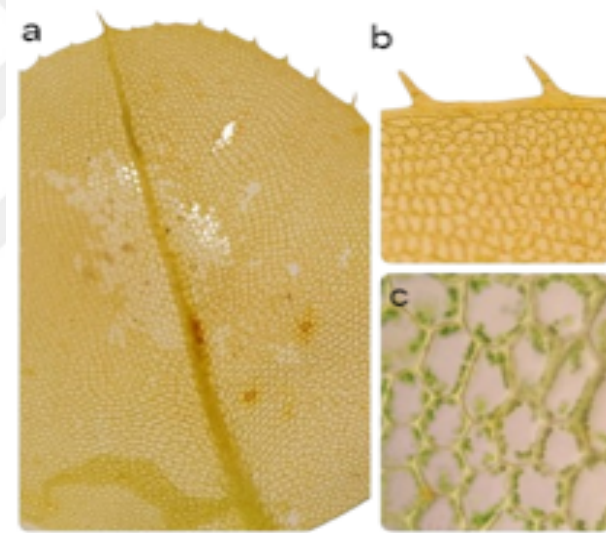
Arazi çalışmaları sonucunda toplanan *Plagiomnium* cinsine ait olan örnek numunelerinin tez kapsamında değerlendirilmesi sonucunda cinse ait 7 takson değerlendirilmiştir. Bununla birlikte bu kısımda Doğu Karadeniz’de yayılışa sahip olan *Plagiomnium* cinsine ait tür seviyesindeki taksonların teşhis anahtarları ile tespit edilen tüm taksonların genişletilmiş betimleri verilerek resmedilmiştir. Farklı teşhis anahtarı modellerinin olmasına rağmen tezde diğerlerine göre daha düzenli olduğu düşünülen göndermeli teşhis anahtarı tercih edilmiştir.

Plagiomnium cinsi için teşhis anahtarı

1. Yapraklar belirgin şekilde dalgalı, şekli lingulat (dil şeklinde)*P. undulatum*
- Yapraklar düz, dalgasız, şekli eliptik, ovate veya lanset 2
2. Yaprak şekli lanset, yaprak ucu belirgin şekilde sivri-uzun, mızrak (cuspidat); kenar dişleri yalnızca üst yarıda mevcut *P. cuspidatum*
- Yaprak şekli eliptik, yaprak ucu belirgin şekilde sivri- geniş; kenar dişleri tabandan uca kadar mevcut 3
3. Kenar dişleri 2 hücre sıralı, dişler sivri; laminal hücreler altıgen (hexagonal) şeklinde ve boyutları 35-80 µm*P. elatum*
- Kenar dişleri 1 hücre sıralı, dişler küt; laminal hücreler düzensiz altıgen (irregular hexagonal) şeklinde ve boyutları 20-35 µm 4
4. Bordür 3-4 sıralı ve geniş-kısa hücrelerden oluşur*P. rostratum*
- Bordür 1-2 sıralı ve dar-uzun hücrelerden oluşur 5
5. Kenar dişleri 3 hücre sıralı; laminal hücreler uzamış altıgen (elongate hexagonal) şeklinde ve boyutları 30-45 µm*P. affine*
- Kenar dişleri 1-2 hücre sıralı; laminal hücreler (hexagonal) şeklinde ve boyutları 30-50 µm 6
6. Yaprak ucu sivri-kısa (mukronat); yaprak kenarlarındaki diş sıklığı fazla ve diş tipi sivridir*P. medium*
- Yaprak ucu küt; yaprak kenarlarındaki diş sıklığı az ve diş tipi küttür ...*P. ellipticum*

3.1.1. *Plagiomnium affine* (Blandow) T.J.Kop.

Plagiomnium affine, geniş ekolojik toleransa sahip bir tür olup toprak yüzeyleri, aşırı kirlenmiş kaya alanları, çürümüş odun parçaları, yaprak ve iğne döküntüleri ile canlı ağaç diplerinde yayılış gösterebilir. Makroskobik olarak yapraklar uzun, dar ve eliptik formda olup, uç kısımları hafif kıvrımlıdır. Yaprak kenarlarında 1–4 hücre uzunluğunda keskin ve belirgin dişler yer alır. Mikroskobik düzeyde, bordür 1-2 sıra hücre kalınlığında olup, bordür hücreleri dar ve uzun yapıdadır. Yaprak ucu (apeks) kısa ve sivridir (mukronat). Dişler genellikle sivri uçlu, sık yerleşimli ve büyük boyutlu hücrelerden meydana gelir. Laminal hücreler ise düzgün altıgen formda, kenarları belirgin ve düzenli bir dizilime sahiptir. Laminal hücre uzunluğu 30–45 µm arasında değişmektedir. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 6’da verilmiştir.

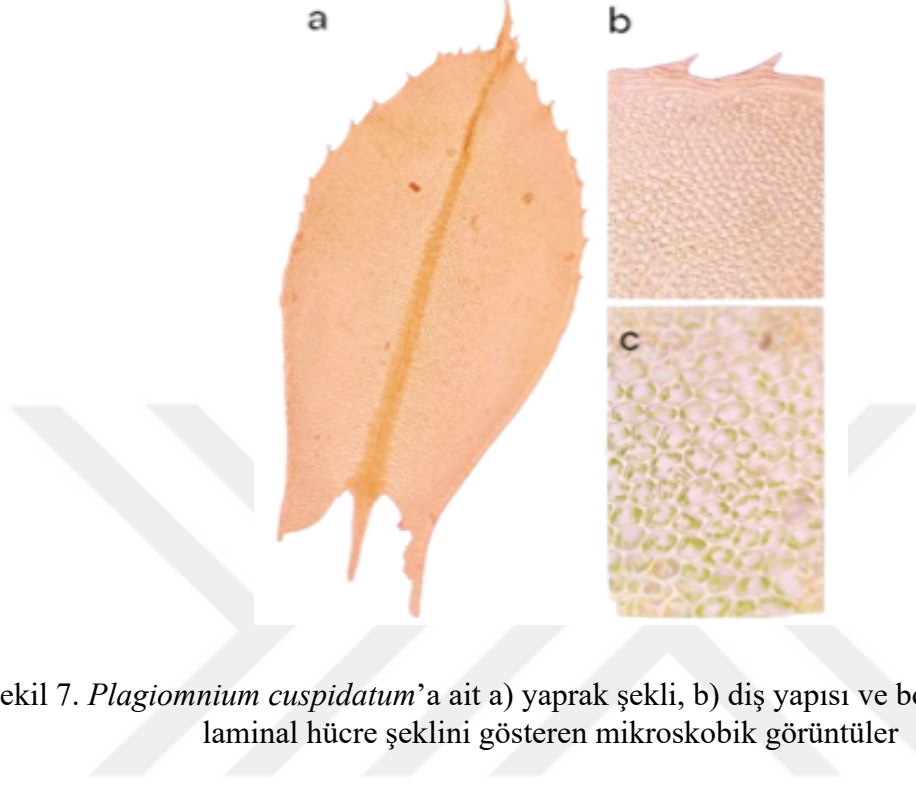


Şekil 6. *Plagiomnium affine*’ye ait a) yaprak şekli b) diş yapısı ve bordür sıraları c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskobik görüntü

3.1.2. *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T.J.Kop.

Plagiomnium cuspidatum, çeşitli habitatlarda yayılış gösterebilen bir türdür. Yaprakları lanset (mızrak biçimli) formda olup, tepe kısmı cuspidat (mızrak uçlu) yapıdadır. Yaprak kenarındaki dişler yalnızca üst yarı kısımda belirgindir ve 1-2 hücre uzunluğundadır. Dişler ince yapılı ve keskin uçludur. Bordür 2-3 sıra hücre kalınlığında olup, bordür hücreleri dar ve uzun yapıdadır. Yaprak ucu (apeks) uzun ve belirgin biçimde sivridir. Laminal hücreler düzenli altıgen formda, ince çeperli ve yaklaşık 30–34 µm

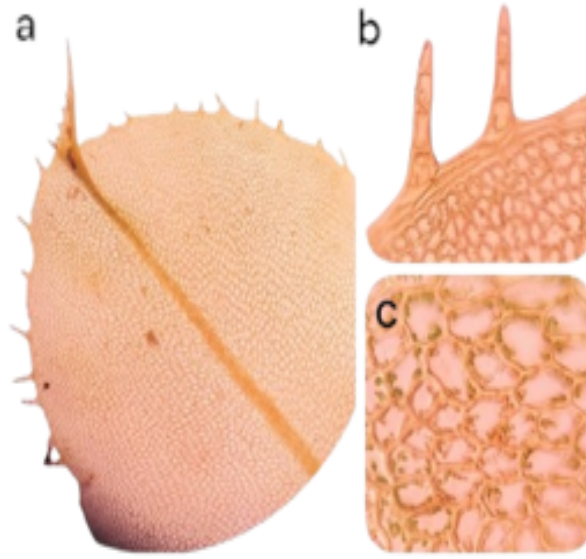
uzunluğundadır. Hücreler arası boşluklar dar olup hücreler sıkı bir dizilim gösterir. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 7. *Plagiomnium cuspidatum*’a ait a) yaprak şekli, b) diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskobik görüntüler

3.1.3. *Plagiomnium elatum* (Bruch & Schimp.) T.J.Kop.

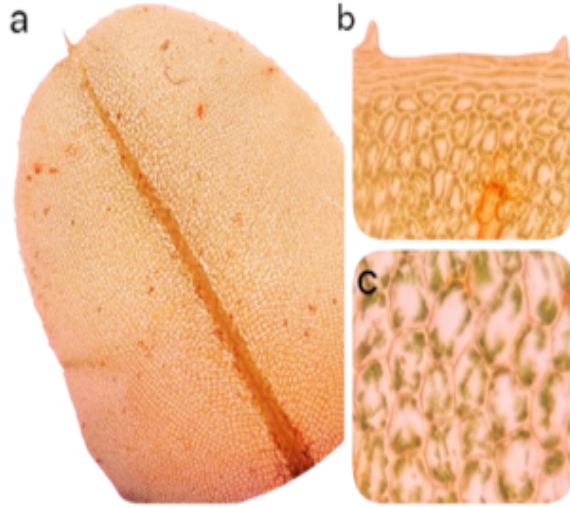
Plagiomnium elatum, genellikle bataklık çayırlar, turbalıklar, dere kenarları ve alüvyonlu orman habitatlarında yayılış gösteren bir türdür. Yapraklar geniş yumurtamsı (ovat) ile eliptik formda olup, uç kısımları kaudat (sivri) veya hafifçe küt olabilir. Yaprak kenarları tabandan uca kadar belirgin şekilde dişlidir. Bu dişler 2 sıra hücre uzunluğunda olup, genellikle sivri uçludur. Laminal hücreler 35-80 µm boyutunda, düzensiz şekilde uzamış, altıgen formda, ince çeperli olup hücre köşelerinde belirgin kalınlaşmalar gözlenir. Bordür 3-4 sıra hücre kalınlığında olup, kısa ve geniş yapıdadır. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 8’de verilmiştir.



Şekil 8. *Plagiomnium elatum*'a ait a) yaprak şekli, b)diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntü

3.1.4. *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T.J.Kop.

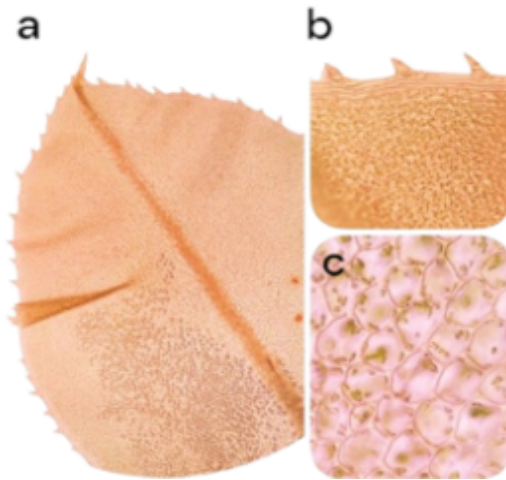
Plagiomnium ellipticum, genellikle nemli orman altları, dere kenarları ve gölgeli toprak yüzeylerinde yayılış gösteren bir türdür. Makroskopik olarak yapraklar eliptik şekilli, düz ve dalgasız olup uç kısımları küttür. Yaprak kenarlarında az sayıda, küt uçlu dişler bulunur. Mikroskopik incelemede ise bu dişlerin küçük hücrelerden oluştuğu görülür. Kenar bordürü 2-3 sıra hücre kalınlığındadır. Laminal hücreler düzgün altıgen formda, hücreler arası boşluklar dar ve boyutları 20–35 µm arasında değişmektedir. Türün ışık mikroskopuna ait görüntüsü Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. *Plagiomnium ellipticum*'a ait a) yaprak şekli, b) diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler

3.1.5. *Plagiomnium medium* (Bruch & Schimp.) T.J.Kop.

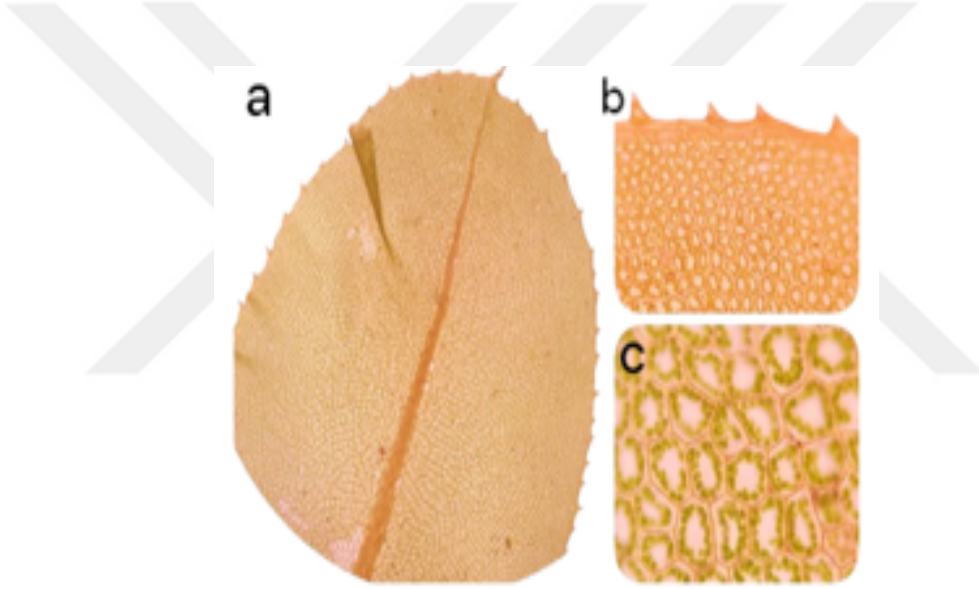
Plagiomnium medium, genellikle nemli orman altları, dere kenarları ve gölgeli toprak yüzeylerinde yayılış gösteren bir türdür. Yaprakları eliptik ile geniş eliptik formda olup, uç kısımları kısa ve sivridir (mukronat). Yaprak kenarları tabandan uca kadar belirgin şekilde dişlidir ve bu dişler 1-2 hücre uzunluğunda, sık dizilimli ve sivri uçludur. Bordür 2-3 sıra hücre kalınlığındadır. Laminal hücreler altıgen formda, birbirine sıkı ve düzenli bir dizilim gösterir. Hücre uzunlukları 31–50 μm arasında değişmektedir. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. *Plagiomnium medium*'a ait a) yaprak şekli, b) diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler

3.1.6. *Plagiomnium rostratum* (Schrad.) T.J.Kop.

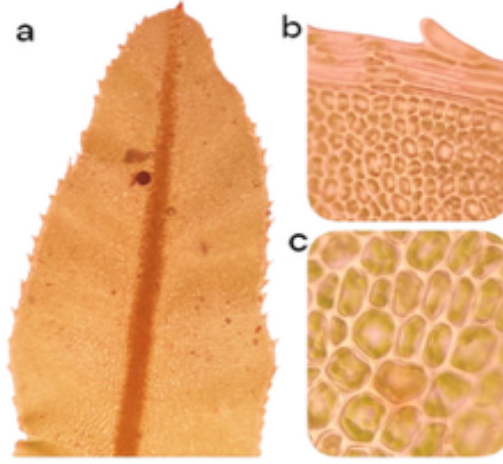
Plagiomnium rostratum, genellikle nemli orman altları, dere kenarları ve gölgeli toprak yüzeylerinde yayılış gösteren bir türdür. Birçok *Plagiomnium* türünde olduğu gibi, yapraklar eliptik ile geniş eliptik formda olup, uç kısımları sivri (mukronulat) yapıdadır. Bu türün en ayırt edici özelliklerinden biri yaprak kenar yapısıdır. Kenar dişleri oldukça zayıf, seyrek veya tamamen yok olabilir; dişler bulunduğu genellikle tek hücre uzunluğunda ve küt uçludur. Bordür 3-4 sıra hücre kalınlığında, geniş ve kısa yapıdadır. Laminall hücreler düzensiz altıgen formda olup, hücreler arası boşluklar belirgindir ve köşe bölgelerinde çeper kalınlaşmaları gösterir. Hücre uzunluğu 20–35 µm arasında değişmektedir. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 11’de verilmiştir.



Şekil 11. *Plagiomnium rostratum*’a ait a) yaprak şekli, b) diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminall hücre şeklini gösteren mikroskobik görüntüler

3.1.7. *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T.J.Kop.

Plagiomnium undulatum, sahada en kolay tanımlanabilen türlerden biridir. Yapraklar lingulat (dil şeklinde) formda olup, orta kısımları belirgin şekilde enine dalgalıdır. Yaprak kenarları tabandan uca kadar dişli olup, yaprak ucu küt yapıdadır. Bordür 2-3 sıra hücre kalınlığındadır. Dişler genellikle 1 hücre uzunluğunda, sivri uçlu ve düzenli aralıklarla dizilmiştir. Laminall hücreler uzamış altıgen formda, ince çeperli ve uzun eksenleri yaprağın orta damarına paralel olarak dizilim gösterir. Hücre boyutu 10–16 µm aralığındadır. Türün ışık mikroskobuna ait görüntüsü Şekil 12’de verilmiştir.



Şekil 12. *Plagiomnium undulatum*'a ait a) yaprak şekli, b) diş yapısı ve bordür sıraları, c) laminal hücre şeklini gösteren mikroskopik görüntüler

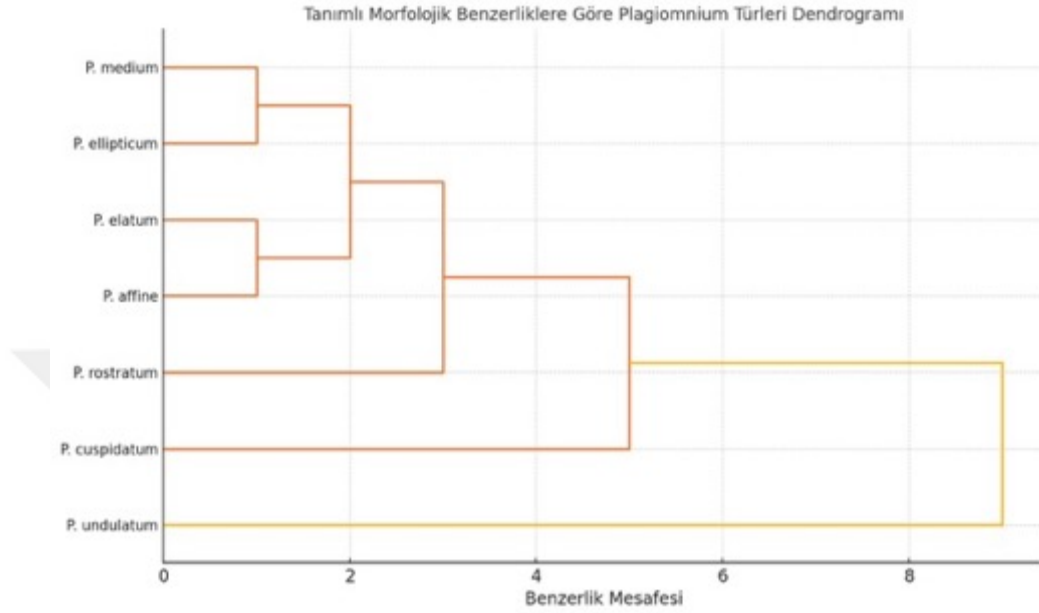
3.2. Morfolojiye Dayalı Filogenetik Analiz

Bu çalışmada, *Plagiomnium* cinsine ait yedi türe (*P. medium*, *P. ellipticum*, *P. elatum*, *P. affine*, *P. rostratum*, *P. cuspidatum* ve *P. undulatum*) ait toplam 13 morfolojik karaktere (yaprak şekli, diş hücre sayısı, bordür sayısı, laminal hücre şekli, yaprak dalgalanması, yaprak ucu şekli, diş sıklığı, bordür hücre uzunluğu, diş tipi, dişteki hücre büyüklüğü, hücre arası boşluk ve hücre boyutu) dayalı olarak hiyerarşik kümeleme analizi (UPGMA yöntemi, Euclidean mesafesi) gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen dendrogram Şekil 13'de verilmiştir.

Dendrogramda *P. medium* ile *P. ellipticum*, oldukça düşük farklılık mesafesinde birleşerek yüksek düzeyde morfolojik benzerlik göstermiştir. Bu iki tür, yaprak şekli, bordür sayısı ve lamina hücre şekli açısından büyük oranda benzer özellikler taşımaktadır. *P. elatum* ile *P. affine*, ayrı bir ikili grup oluşturarak yüksek düzeyde benzerlik sergilemiştir (Şekil 13). Bu birliktelik, özellikle yaprak şekli ve diş hücre sayısındaki örtüşmeden kaynaklanmaktadır. *P. medium* – *P. ellipticum* ve *P. elatum* – *P. affine* çiftleri, birbirlerine göre daha az benzer olmakla birlikte daha büyük bir grup içerisinde kümelenmiş ve genel olarak bazı morfolojik (yaprak şekli ve laminal hücre şekli) özellikler bakımından benzer oldukları ortaya konmuştur (Şekil 13).

P. rostratum, bu dört türden daha uzak bir mesafede yer alarak morfolojik olarak daha ayrıışık bir yapı göstermiştir. Bu türdeki farklılık, diş hücre sayısı ve laminal hücre şekli ile ilişkilendirilebilir. *P. cuspidatum*, diğerlerinden çoklu morfolojik özellik yönünden (yaprak şekli, laminal hücre şekli, yaprak ucu ve dişin pozisyonu) ayrılmaktadır. En dışta

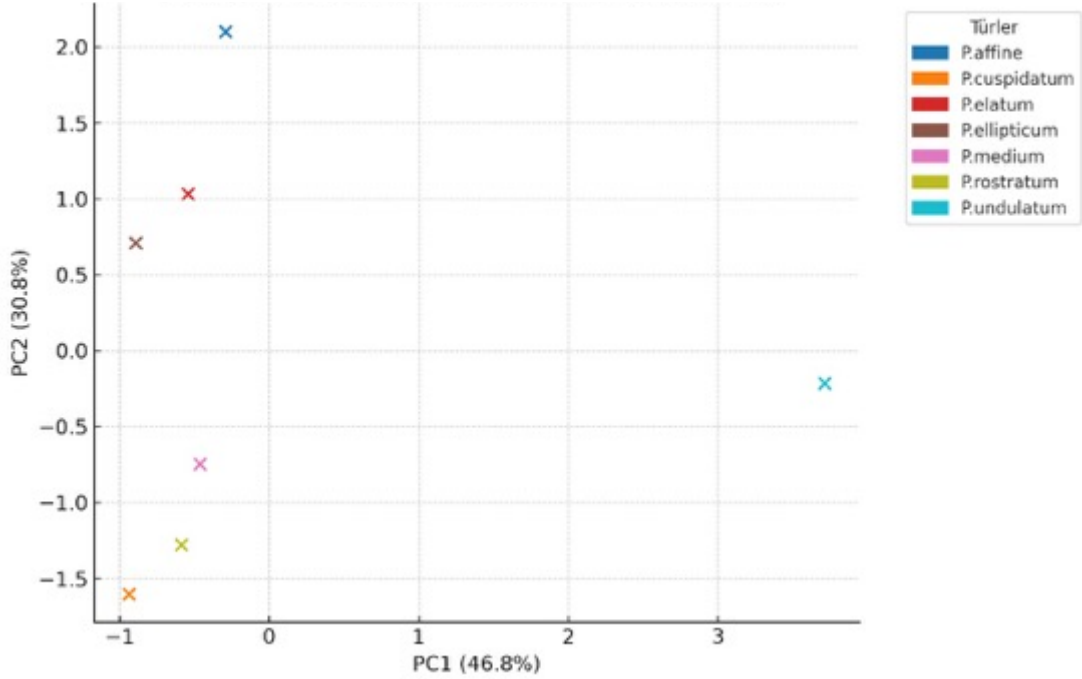
konumlanan *P. undulatum*, karakteristik olarak dalgalı yaprak kenarları ve düşük hücre boyutu nedeniyle analizde en farklı morfolojik yapıya sahip tür olarak tanımlanmıştır (Şekil 13).



Şekil 13. Morfolojik karakterlere dayalı Öklid mesafe ölçütü kullanılarak oluşturulan dendrogram

3.3. Temel Bileşen Analizi (PCA)

PCA analizinden elde edilen ilk 2 ana bileşen, toplam varyasyonun %77,6'sını açıklamıştır (PC1: %46,8, PC2: %30,8). PC1 bileşeni üzerinde katkısı en yüksek olan karakterler, yaprak şekli ve yaprak dalgalanması iken, PC2 bileşeni üzerinde katkısı en yüksek olan karakterler, laminal hücre şekli, bordür sayısı ve diş tipi olmuştur. *P. undulatum*, özellikle PC1 ekseninde diğer türlerden çok farklı yaprak şekli ile ilişkili morfolojik özellikler taşımasından kaynaklanmaktadır. *P. cuspidatum*, *P. medium* ve *P. rostratum*, özellikle yaprak şekli ve yaprak kenar karakterleri bakımından benzerliğe işaret eden PC1 ve PC2 değerleriyle morfolojik olarak yakın konumlanmıştır. *P. elatum* ve *P. ellipticum*'un nispeten yakın konumlanmış olması iki türün benzer bordür veya hücre morfolojisi göstermesine atfedilebilir. PC2 tarafından açıklanan varyansın en fazla olduğu *P. affine* için ayırtıcı morfolojik özelliklerin bordür sayısı ve diş yapısı olduğu görülmektedir (Şekil 14).



Şekil 14. *Plagiomnium* türlerinin morfolojileri temelli Temel Bileşenler Analizi (PCA) grafiği

3.4. Moleküler Bulgular

Yedi *Plagiomnium* türüne ait 21 bireyden 382 nükleotit çifti (nç) uzunluğunda cpDNA *trnL*-F dizisi içeren veri setinde herhangi bir dizide ekleme ve dizileme hatası tespit edilmedi. Yedi türe ait 14 yeni haplotip (*P. affine*: 1, *P. elatum*: 1, *P. ellipticum*: 2, *P. medium*: 3, *P. rostratum*: 2, *P. undulatum*: 2 ve *P. cuspidatum*: 3) dahil olmak üzere 21 dizi GenBank'a (Erişim no. xxxxxxxx-xxxxxxx) gönderilmiştir. Toplamda 24 değişken bölge tespit edilmiş ve bunların 22'si korunmuşluk açısından bilgilendiriciydi (Tablo 6). *Plagiomnium* türleri için cpDNA *trnL*-F veri setine dayalı tür içi genetik mesafeler $0,0000 \pm 0,0000$ (*P. affine* ve *P. elatum*, Tablo 8) ile $0,0070 \pm 0,0036$ (*P. undulatum*, Tablo 8) ve türler arası genetik mesafeler $0,0026 \pm 0,0024$ (*P. affine*– *P. elatum*, Tablo 8) ile $0,0390 \pm 0,0096$ (*P. undulatum* – *P. cuspidatum*, Tablo 8) arasında değişmektedir.

Tablo 6. *trnL*-F bölgelerinin değişken nükleotit pozisyonları (bilgi verici nükleotitler kırmızı renklidir)

Örnek	<i>trnL</i> -F
	111122333333
	222445558899034919001224
	457591463508998699367581
C_aff_GRS	TTAAGAACTAATGAATGGCGGAGA
C_aff_ART	
C_aff_TRB	
C_ela_GRS	.C.....
C_ela_ART	.C.....
C_ela_TRB	.C.....
C_elp_GRS	C.G....C.....
C_elp_ART	C.G....C.....
C_elp_TRB	C.....
C_med_GRS	C.G....C.....
C_med_ART	C.....T
C_med_TRB	C.....
C_ros_GRS	..G.A...C.GG...C.....
C_ros_ART	..G.A...C.GG...C..T.CG..
C_ros_TRB	..G.A...C.GG...C..T.CG..
C_und_GRS	..G.GG.C...AC.C..T.CG..
C_und_ART	..G.GG.C...AC.C.....C.
C_und_TRB	..G.GG.C...AC.C.....C.
C_cus_GRS	A..T.GG.A.GCAA.A..C.
C_cus_ART	G...A..T.GG.A.GCAA.A....
C_cus_TRB	A..T.GG.A.GCAA.A....

Yedi *Plagiomnium* türüne ait 21 bireyden 238 nükleotit çifti (nç) uzunluğunda nrDNA ITS2 dizisi içeren veri setinde çok sayıda ekleme ve silinme tespit edildi. Yedi türe ait 9 yeni haplotip (*P. affine*: 1, *P. elatum*: 2, *P. ellipticum*: 1, *P. medium*: 2, *P. rostratum*: 1, *P. undulatum*: 1 ve *P. cuspidatum*: 1) dahil olmak üzere 21 dizi GenBank'a (Erişim no. xxxxxxxx-xxxxxxx) gönderilmiştir. Toplamda 156 değişken bölge tespit edilmiş ve bunların 155'i korunmuşluk açısından bilgilendiriciydi (Tablo 7). nrDNA ITS2 veri setine dayalı tür içi genetik mesafeler $0,0000 \pm 0,0000$ (*P. affine*, *P. ellipticum*, *P. rostratum*, *P. undulatum* ve *P. cuspidatum* Tablo 9) ile $0,0137 \pm 0,0067$ (*P. elatum*, Tablo 9) arasında ve türler arası genetik mesafeler $0,0258 \pm 0,0105$ (*P. medium* – *P. ellipticum*, Tablo 9) ile $0,3900 \pm 0,0391$ (*P. elatum* – *P. undulatum*, Tablo 9) arasında değişmektedir. Yedi *Plagiomnium* türü için birleştirilmiş (cpDNA *trnL*-F + nrDNA ITS2) veri setine dayalı tür içi genetik mesafeler $0,0000 \pm 0,0000$ (*P. affine*, *P. undulatum* Tablo 10) ile $0,0137 \pm 0,0067$ (*P. elatum*, Tablo 10) arasında ve türler arası genetik mesafeler $0,0151 \pm 0,0054$ (*P. affine* – *P. elatum*, Tablo 10) ile $0,1496 \pm 0,0147$ (*P. undulatum* – *P. elatum*, Tablo 10) arasında

değişmektedir. ITS2 dizileri, bir dizi hizalanamayan bölge ve eklemenin varlığı nedeniyle hizalanmamış dizi uzunluğuna göre çok daha uzun hizalanmıştır.



Tablo 7. ITS2 bölgelerinin değişken nükleotit pozisyonu

```

GRS      . . . . . A . . . . . T . . . . . A . . . . . A . . . . . A . A . . . A
_ART     . . . . . A . . . . . T . . . . . A . . . . . A . . . . . A . A . . . A
_TRB     . . . . . A . . . . . T . . . . . C . . . . . A . . . . . A . . . . . A . TC . A
_GRS     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG-TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . . . CCG.G.GTTCAA . . A . CG
_ART     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG-TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . . . CCG.G.GTTCAA . . A . CG
_TRB     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG-TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . . . CCG.G.GTTCAA . . A . CG
_GRS     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG.TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . G . CCG.AAA---AA . . T . .
_ART     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG.TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . G . CCG.AAA---AA . . T . .
_TRB     . . . G- . . . . . GGGTTA-AT . . . C . -TCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGTCCC . TA.TC-----CTTC.AA . G . -GG.TGC.ACGC.TCTC----GAGC.AA.C . GA-- . G . CCG.AAA---AA . T . T .
_GRS     . . . G- . . . . . -----T.GA . . . GTCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGCCCC . CG.TCGCGTCGTCCTC.AA . G . -G- . GGGATGTT . CTTTCGAGAG.GCAAA.C . . ATT . . CTC-A.TAAGCC . . G . . .
_ART     . . . G- . . . . . -----T.GA . . . GTCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGCCCC . CG.TCGCGTCGTCCTC.AA . G . -G- . GGGATGTT . CTTTCGAGAG.GCAAA.C . . ATT . . CTC-A.TAAGCC . . G . . .
_TRB     . . . G- . . . . . -----T.GA . . . GTCTCT.GTTT.GTCCCA.CTGCCCC . CG.TCGCGTCGTCCTC.AA . G . -G- . GGGATGTT . CTTTCGAGAG.GCAAA.C . . ATT . . CTC-A.TAAGCC . . G . . .
_GRS     CGCGGCTGAG.G.TGGAGTCGCGG.G . . . -TGCTCT.GTTTCGTCCCA.CTGCTC.GTTGCTTT-----TCAAA.CAAAAA.GCG . . . GGT.TT.GCTTCG.GCTTC.GGCTTCT-C . TT-- . T . -CC.A.G . . . CG
_ART     CGCGGCTGAG.G.TGGAGTCGCGG.G . . . -TGCTCT.GTTTCGTCCCA.CTGCTC.GTTGCTTT-----TCAAA.CAAAAA.GCG . . . GGT.TT.GCTTCG.GCTTC.GGCTTCT-C . TT-- . T . -CC.A.G . . . CG
_TRB     CGCGGCTGAG.G.TGGAGTCGCGG.G . . . -TGCTCT.GTTTCGTCCCA.CTGCTC.GTTGCTTT-----TCAAA.CAAAAA.GCG . . . GGT.TT.GCTTCG.GCTTC.GGCTTCT-C . TT-- . T . -CC.A.G . . . CG
_GRS     . . . G.C . . GA.G . . CCGCGAAGG . TC.CTG.ACTTTTG.CGTGGCACTG-.CC . TC.CTCGTCTCCGT.AG.AA.A . -TTT.G . TCGG . TTGC--AC . TC.CCCA.CTTC.AC . TT--A.AA--TAA . . T . .
_ART     . . . G.C . . GA.G . . CCGCGAAGG . TC.CTG.ACTTTTG.CGTGGCACTG-.CC . TC.CTCGTCTCCGT.AG.AA.A . -TTT.G . TCGG . TTGC--AC . TC.CCCA.CTTC.AC . TT--A.AA--TAA . . T . .
_TRB     . . . G.C . . GA.G . . CCGCGAAGG . TC.CTG.ACTTTTG.CGTGGCACTG-.CC . TC.CTCGTCTCCGT.AG.AA.A . -TTT.G . TCGG . TTGC--AC . TC.CCCA.CTTC.AC . TT--A.AA--TAA . . T . .

```

Tablo 8. Yedi *Plagiomnium* türü arasında cpDNA *trnL-F* bölgesine dayalı olarak hesaplanan ikili genetik mesafe değerleri

	<i>P. affine</i>	<i>P. elatum</i>	<i>P. ellipticum</i>	<i>P. medium</i>	<i>P. rostratum</i>	<i>P. undulatum</i>	<i>P. cuspidatum</i>
<i>P. affine</i>	0,0000±0,0000						
<i>P. elatum</i>	0,0026±0,0024	0,0000±0,0000					
<i>P. ellipticum</i>	0,0061±0,0035	0,0087±0,0045	0,0035±0,0025				
<i>P. medium</i>	0,0052±0,0030	0,0079±0,0042	0,0038±0,0022	0,0052±0,0033			
<i>P. rostratum</i>	0,0209±0,0072	0,0236±0,0077	0,0148±0,0054	0,0175±0,0058	0,0052±0,0029		
<i>P. undulatum</i>	0,0227±0,0067	0,0253±0,0071	0,0201±0,0067	0,0209±0,0066	0,0297±0,0089	0,0070±0,0036	
<i>P. cuspidatum</i>	0,0279±0,0075	0,0305±0,0081	0,0253±0,0075	0,0262±0,0076	0,0332±0,0084	0,0390±0,0096	0,0035±0,0024

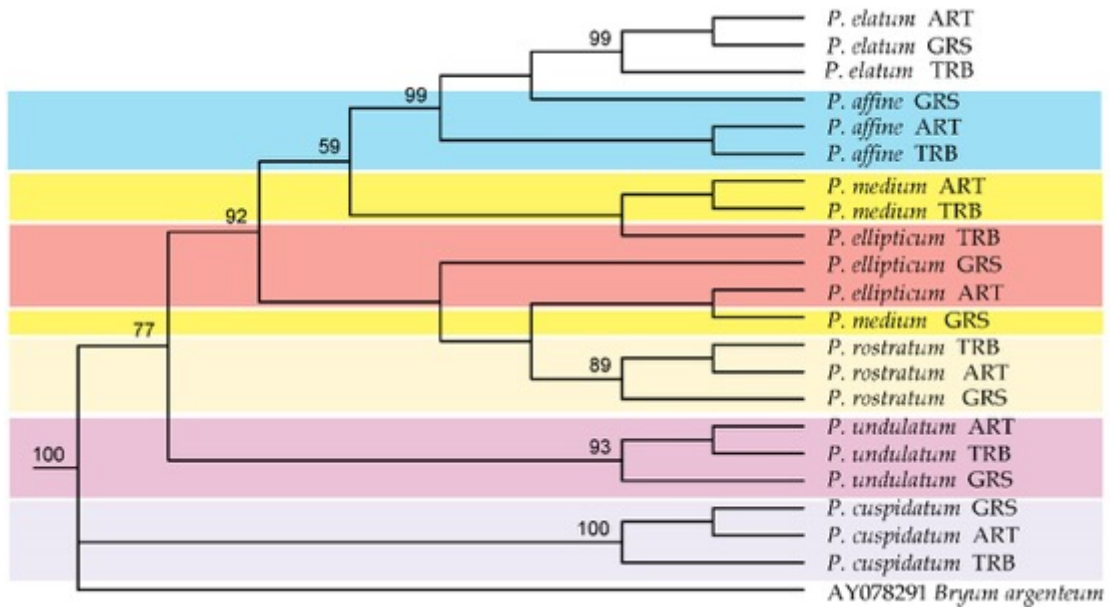
Tablo 9. Yedi *Plagiomnium* türü arasında nrDNA ITS2 bölgesine dayalı olarak hesaplanan ikili genetik mesafe değerleri

	<i>P. affine</i>	<i>P. elatum</i>	<i>P. ellipticum</i>	<i>P. medium</i>	<i>P. rostratum</i>	<i>P. undulatum</i>	<i>P. cuspidatum</i>
<i>P. affine</i>	0,0000±0,0000						
<i>P. elatum</i>	0,0395±0,0127	0,0137±0,0067					
<i>P. ellipticum</i>	0,2526±0,0340	0,2869±0,0329	0,0000±0,0000				
<i>P. medium</i>	0,2474±0,0333	0,2778±0,0324	0,0258±0,0105	0,0069±0,0051			
<i>P. rostratum</i>	0,2526±0,0315	0,2766±0,0333	0,1340±0,0283	0,1289±0,0290	0,0000±0,0000		
<i>P. undulatum</i>	0,3608±0,0386	0,3900±0,0391	0,2784±0,0321	0,2938±0,0328	0,2474±0,0306	0,0000±0,0000	
<i>P. cuspidatum</i>	0,3247±0,0351	0,3488±0,0360	0,2887±0,0288	0,2766±0,0293	0,2680±0,0324	0,3660±0,0336	0,0000±0,0000

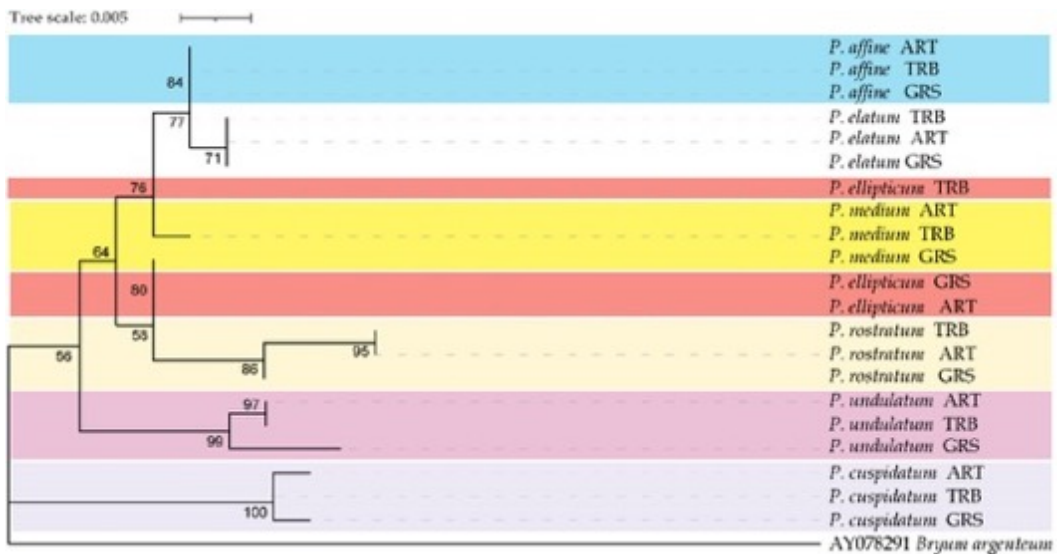
Tablo 10. Yedi *Plagiomnium* türü arasında bütünleşik veri setine (cpDNA *trnL-F* + nrDNA ITS2) dayalı ikili genetik mesafe değerleri

	<i>P. affine</i>	<i>P. elatum</i>	<i>P. ellipticum</i>	<i>P. medium</i>	<i>P. rostratum</i>	<i>P. undulatum</i>	<i>P. cuspidatum</i>
<i>P. affine</i>	0,0000±0,0000						
<i>P. elatum</i>	0,0151±0,0054	0,0070±0,0030					
<i>P. ellipticum</i>	0,0933±0,0134	0,1067±0,0143	0,0058±0,0025				
<i>P. medium</i>	0,0904±0,0137	0,1020±0,0145	0,0157±0,0040	0,0128±0,0039			
<i>P. rostratum</i>	0,0968±0,0131	0,1067±0,0140	0,0510±0,0085	0,0531±0,0087	0,0070±0,0028		
<i>P. undulatum</i>	0,1357±0,0158	0,1472±0,0164	0,1090±0,0121	0,1154±0,0125	0,1020±0,0112	0,0000±0,0000	
<i>P. cuspidatum</i>	0,1287±0,0142	0,1386±0,0146	0,1165±0,0127	0,1148±0,0120	0,1119±0,0135	0,1496±0,0147	0,0035±0,0020

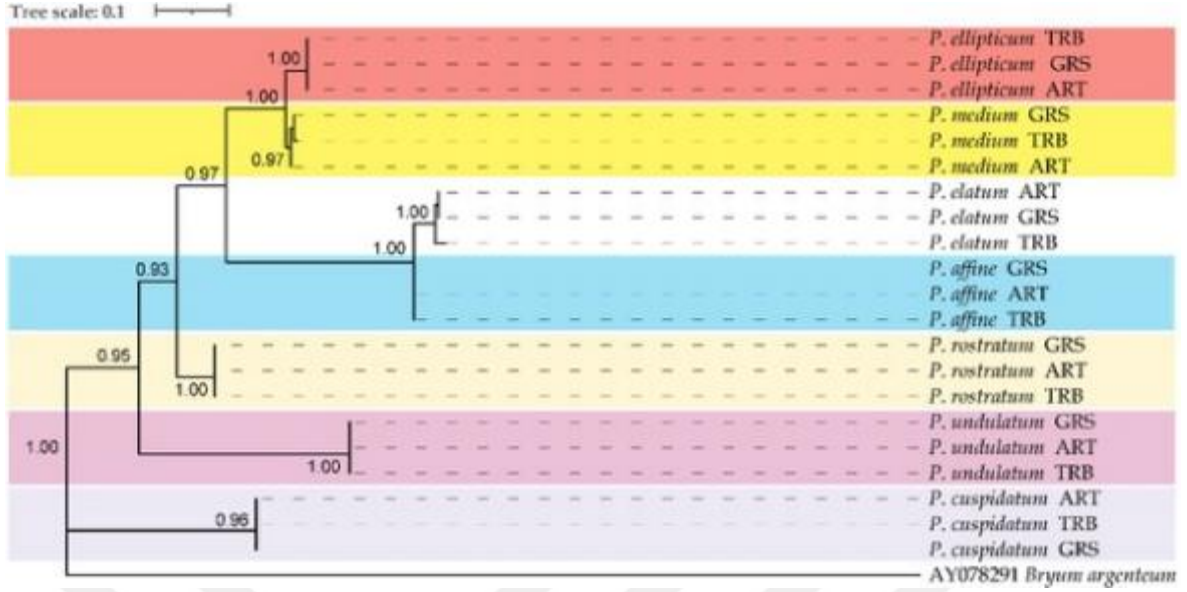
cpDNA *trnL-F* bölgesine dayalı filogenetik ağaç, *P. medium* & *P. ellipticum* ve *P. affine* & *P. elatum* kardeş türlerini temsil eden 1. ve 2. Kladlar yüksek destek değerleriyle (MP BS = %59, ML BS = %64 ve BI BPP = 0,97, Şekil 15, 16, 17) kümelenmiştir. *P. rostratum*'un 3. Kladı (MP BS = %92, ML BS = %86 ve BI BPP = 0,93, Şekil 15, 16, 17), *P. undulatum*'un 4. Kladı (MP BS = %77, ML BS = %56 ve BI BPP = 0.95, Şekil 15, 16, 17) ve *P. cuspidatum*'un 5. Kladı (MP BS = %100, ML BS = %100 ve BI BPP = 1.00, Şekil 15, 16, 17) oluşturduğu gösterilmiştir.



Şekil 15. cpDNA *trnL-F* dizi veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı

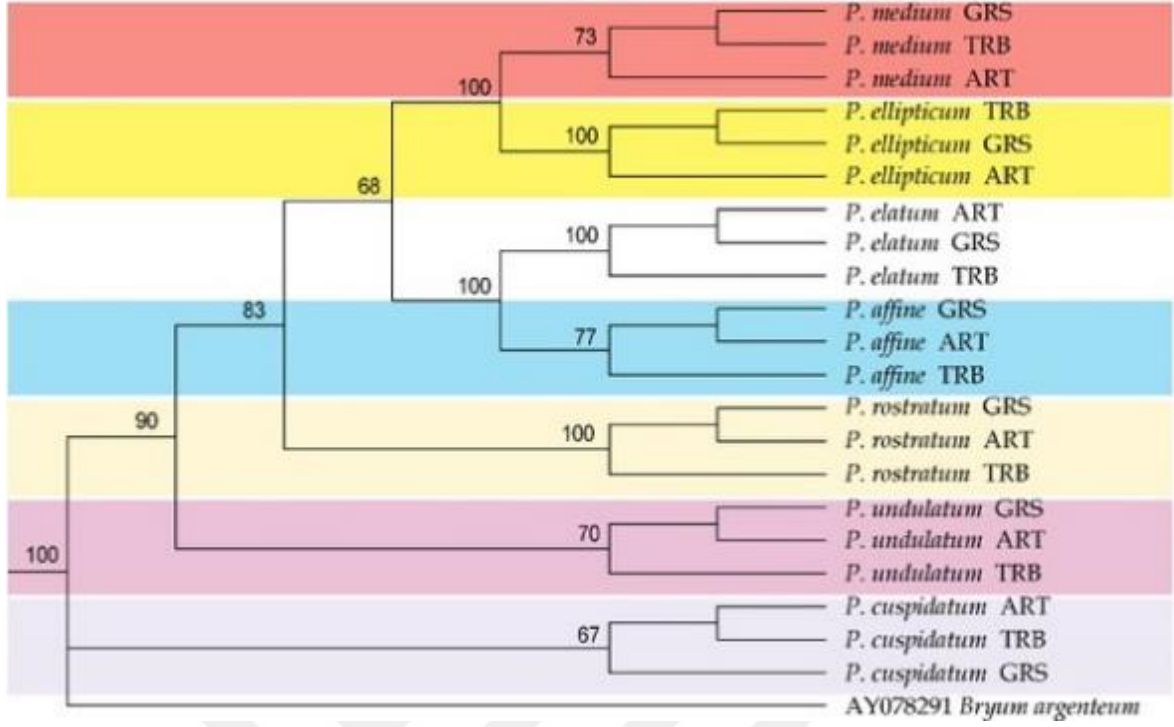


Şekil 16. cpDNA *trnL-F* dizi veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı

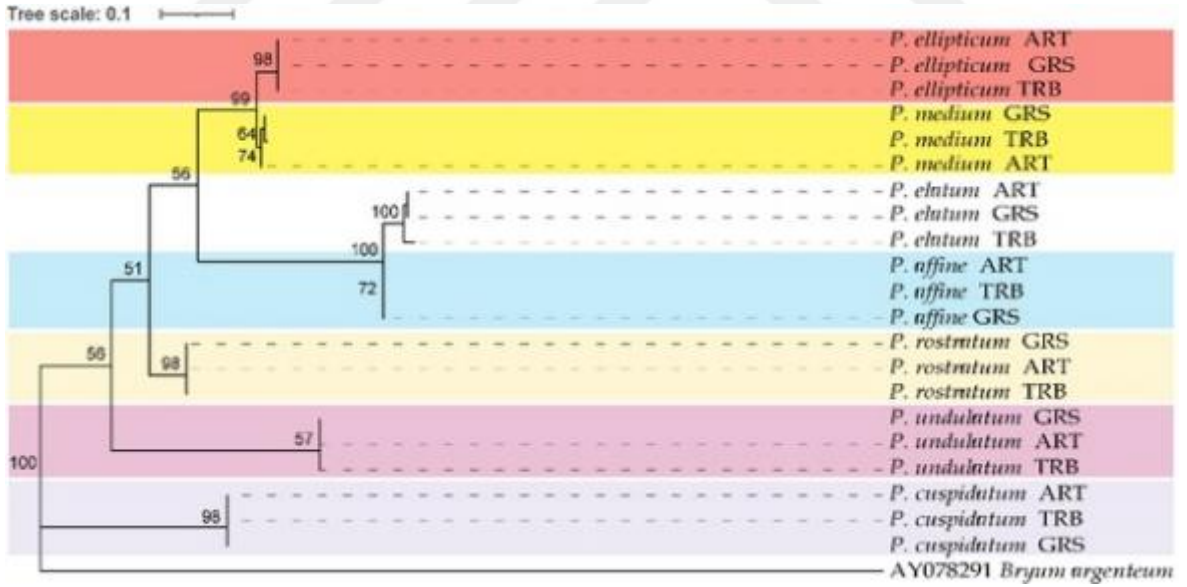


Şekil 17. cpDNA *trnL-F* dizi veri setinden türetilen Bayesian çıkarsama (BI) ağacı

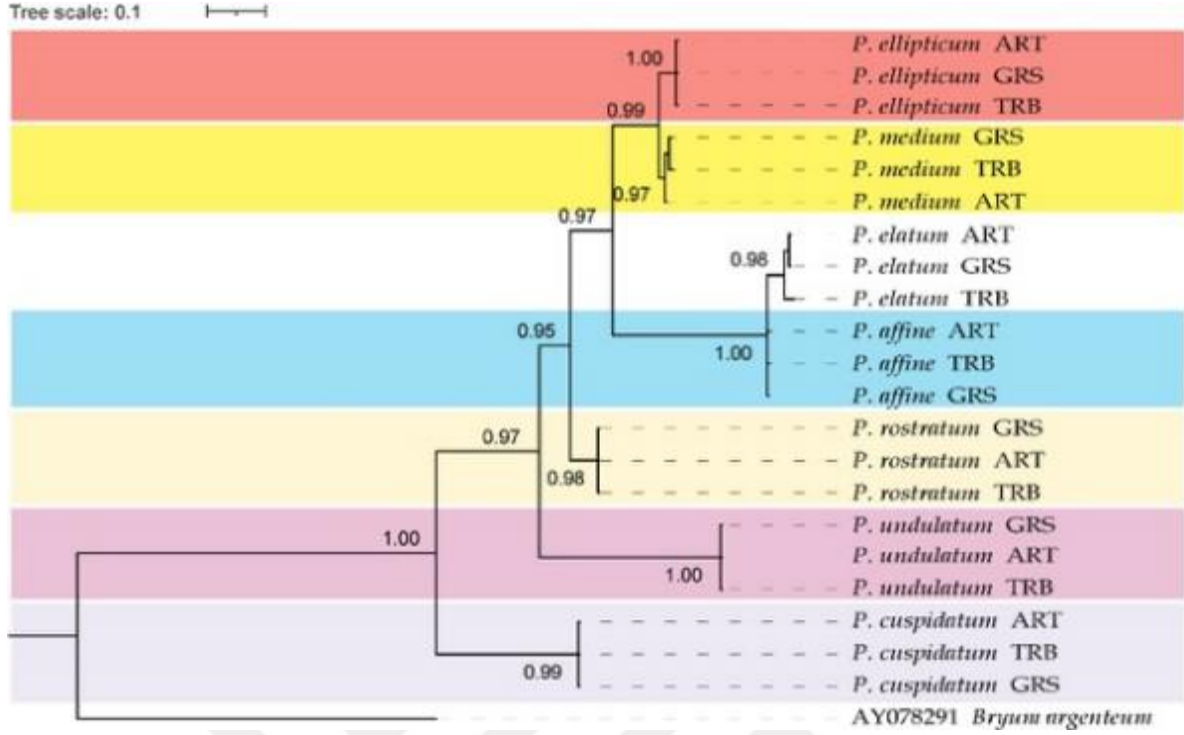
nrDNA ITS2 bölgesine ait verilerin analizine dayalı filogenetik ağaç topolojilerinde *Plagiomnium* cinsi içinde *P. medium* & *P. ellipticum*'un ve *P. affine* & *P. elatum*'un temsil eden kladlar dikkate değer güvenilirlik destekleriyle (MP BS = %68, ML BS = %56 ve BI BPP = 0,97, Şekil 18, 19, 20) birlikte kümelenmiştir. *P. rostratum*'u içeren 3. Klad (MP BS = %83, ML BS = %51 ve BI BPP = 0,95, Şekil 18, 19, 20), *P. undulatum*'u içeren 4. Klad (MP BS = %90, ML BS = %56 ve BI BPP = 0,97, Şekil 18, 19, 20) ve *P. cuspidatum*'u temsil eden 5. Klad (MP BS = %100, ML BS = %100 ve BI BPP = 1.00, Şekil 18, 19, 20) ağacın dışına doğru konumlanarak toplamda 5 kladlı monofiletik bir grup oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 18. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı

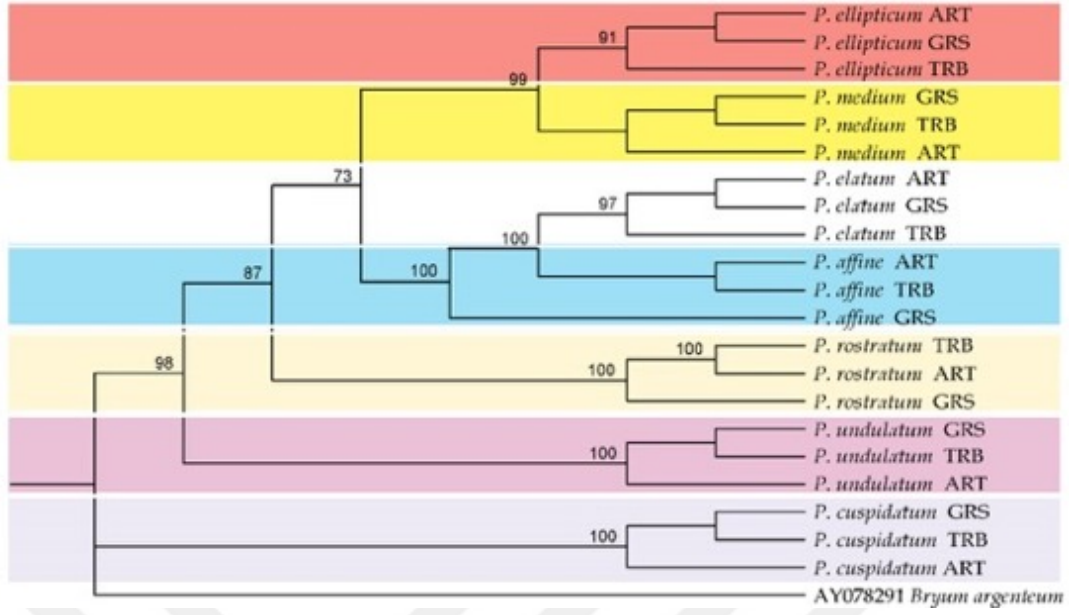


Şekil 19. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı

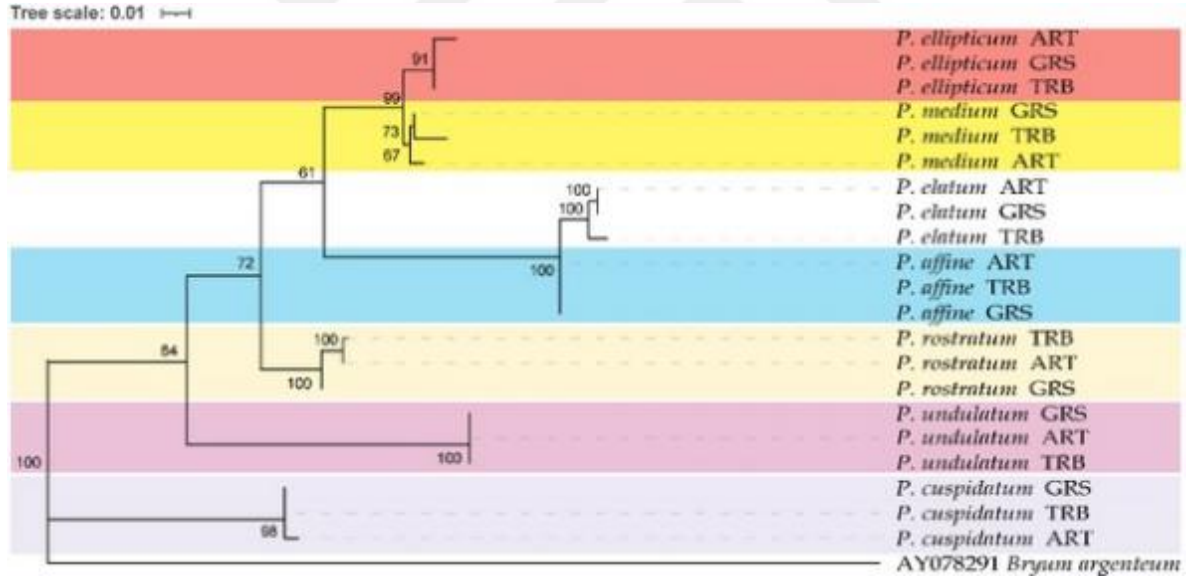


Şekil 20. nrDNA ITS2 dizi veri setinden türetilen Bayesian çıkarıma (BI) ağacı

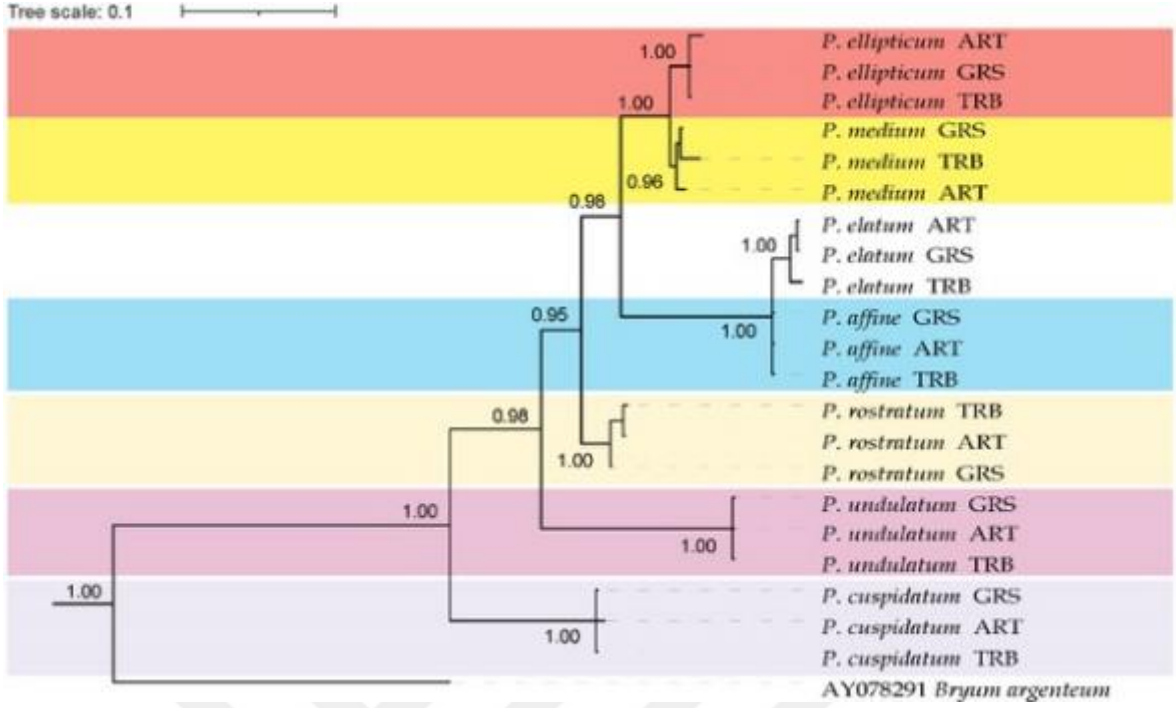
Birleştirilmiş veri setine (cpDNA *trnL-F* + nrDNA ITS2) ait verilerin analizine dayalı filogenetik ağaç topolojilerinde *Plagiomnium* cinsi içinde *P. medium* & *P. ellipticum*'un ve *P. affine* & *P. elatum*'un temsil eden kladlar dikkate değer güvenilirlik destekleriyle (MP BS = %73, ML BS = ve BI BPP = 0,98, Şekil 21, 22, 23) birlikte kümelenmiştir. *P. rostratum*'u içeren 3. Klad (MP BS = %87, ML BS = %72 ve BI BPP = 0,95, Şekil 21, 22, 23), *P. undulatum*'u içeren 4. Klad (MP BS = %98, ML BS = %84 ve BI BPP = 0,98, Şekil 21, 22, 23) ve *P. cuspidatum*'u temsil eden 5. Klad (MP BS = %100, ML BS = %100 ve BI BPP = 1.00, Şekil 21, 22, 23) ağacın dışına doğru konumlanarak toplamda beş klad'dan oluşan monofiletik bir grup oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 21. Kombine (ITS2 + *trnL*-F) veri setinden türetilen maksimum tutumluluk (MP) ağacı



Şekil 22. Kombine (ITS2 + *trnL*-F) veri setinden türetilen maksimum olabilirlik (ML) ağacı



Şekil 23. Kombine (ITS2 + *trnL*-F) veri setinden türetilen Bayesian çıkarsama (BI) ağacı

4. TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Analiz

Plagiomnium cinsine ait türlerin morfolojik karakterleri, taksonomik ayrımın temel dayanaklarından biri olmayı sürdürmektedir. *Plagiomnium* cinsi, yaprak morfolojisi, diş yapısı ve hücre karakterleri gibi mikro-morfolojik açıdan yüksek düzeyde çeşitlilik sergileyen bir gruptur. Bu çalışmada, *Plagiomnium* cinsine ait yedi (*P. cuspidatum*, *P. undulatum*, *P. rostratum*, *P. ellipticum*, *P. medium*, *P. elatum* ve *P. affine*) türün yaprak morfolojisi, yaprak diş yapısı, bordür hücresi uzunluğu, laminal hücrelerin formu gibi ayırt edici özellikleri içeren 13 morfolojik karakteri kullanılarak yapılan çok değişkenli istatistiksel analiz (PCA, Hiyerarşik kümeleme), türler arası benzerlik ve ayrışmaları istatistiksel düzeyde değerlendirmeye olanak tanımıştır. Bulgularımız, hem klasik taksonomik bilgileri desteklemekte hem de bazı tür çiftleri arasındaki morfolojik yakınlığın yeniden yorumlanmasına imkân sağlamıştır.

Plagiomnium affine ile *P. elatum*, benzer yaprak yapıları, sık yerleşimli diş yapıları ve benzer bordür hücre düzeni bakımından yakın morfolojik karakteristikler göstermiştir. PCA sonuçlarında bu iki türün aynı ekseninde yüksek yük değerleriyle konumlanması, bu morfolojik benzerliği doğrularken, dendrogramda da aynı grupta yer almaları, bu yakınlığın istatistiksel olarak da desteklendiğini göstermektedir. Mamczarz (1974), *P. affine* ve *P. elatum* türlerinin diş yapılarının ve laminal hücre konfigürasyonlarının oldukça benzer olduğunu ve bu durumun sistematik ayrımı zorlaştırabileceğini, ancak bordür hücre uzunluğu ve laminal hücre şekli gibi mikrokarakterlerle ayrılabilirdiğini belirtmiştir. Çalışmamızda, bu iki tür hem Hiyerarşik Kümeleme dendrogramında (Şekil 13) hem de PCA analizinde (Şekil 14) birlikte kümelenmiştir. Yaprak uzunluğu ve hücre morfolojisindeki küçük farklar dışında, morfolojik olarak yüksek düzeyde benzerlik göstermektedirler.

Benzer şekilde *P. medium* ile *P. ellipticum*, yaprak şekli (eliptik), bordür hücre organizasyonu ve yaprak kenar dişlerinin yapısı açısından büyük benzerlik göstermektedir. Bu benzerlik PCA analizinde bu türlerin yüksek varyans açıklayıcı karakterlerde benzer pozisyonlarda yer almalarıyla da ortaya konmuştur. Wyatt vd., (1992), *P. medium*'un allopoliploid geçmişi nedeniyle morfolojik olarak *P. ellipticum*'a büyük ölçüde benzediğini, hatta bazı örneklerin bu iki tür arasında geçiş formlarında olduğunu belirtmektedir. Harris

(2008) ise bu türlerin morfolojik olarak ayrılmasının ancak detaylı mikroskopik analizlerle mümkün olduğunu savunmuştur. Çalışmamızda da bu görüşü destekleyen bulgular elde edilmiştir. Her iki tür, dendrogramda aynı klad içinde gruplanarak morfolojik yakınlığın güçlü bir göstergesini sunmuştur (Şekil 13).

P. rostratum, yaprak ucu rostrat yapısı ve belirgin laminal hücre uzaması ile diğer türlerden ayrılmaktadır. Yapraklarının üst yarısında görülen kısa dişler ve uzun bordür hücreleri, bu türü morfolojik olarak özgün bir konuma taşımaktadır ki Koponen (1971), bu türü özellikle rostrat yaprak ucu nedeniyle tür düzeyinde ayırt edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Dendrogramda orta konumda yer alması, onun hem *P. medium* – *P. ellipticum* hem de *P. affine* – *P. elatum* çiftleriyle bazı ortak karakteristikler taşıdığını, ancak genel morfolojisinin farklılaştığını göstermektedir. Wyatt ve Odrzykoski (1992), *P. rostratum*'un bazı moleküler çalışmalarla da orta düzeyde farklılaşan bir tür olduğunu belirtmektedir; bu durum çalışmamızla uyumludur.

Plagiomnium undulatum, çalışmada en belirgin morfolojik özelliklere sahip tür olarak öne çıkmaktadır. Lingulat yaprak şekli, yaprak kenarlarında belirgin dalgalanmalar (undülasyon) ve üç sıralı bordür hücre yapısı bu türü diğerlerinden açıkça ayırmaktadır. PCA sonuçlarında dalgalı yaprak kenarı, varyasyonun büyük bölümünü açıklayan karakterlerden biri olarak öne çıkmış (Şekil 14) ve bu türü analiz düzleminde diğer türlerden uzaklaştırmıştır. Dalgalı yaprak yapısı, *P. undulatum*'un karakteristik morfolojik tanımlayıcısı olarak gösterilmiştir (Koponen, 1971; Smith, 2004). Smith (2004) ayrıca bu türün laminal hücrelerinin daha büyük ve ince cidarlı olduğunu, yaprak formunun lingulat olduğunu belirtmiştir. Dendrogramda da en izole dalda konumlanması, bu türün morfolojik olarak cins içerisinde belirgin şekilde ayrıldığını göstermektedir. Stech ve Sim-Sim (2006) bu türün hem morfolojik hem de moleküler düzeyde diğer *Plagiomnium* türlerinden oldukça farklılaştığını göstermiştir.

Plagiomnium cuspidatum, yaprak ucunun uzun ve sivri olması (cuspidate) ve yaprak kenar dişlerinin yalnızca yaprağın üst kısmında bulunması gibi karakterlerle tanımlanmıştır ve hem PCA (Şekil 14) hem dendrogram analizlerinde izole pozisyonda yer alarak (Şekil 13), bu türün cins içindeki morfolojik olarak en farklı taksonlardan biri olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Smith (2004), bu türün yaprak ucu ve hücre yapısı bakımından ayırt edici olduğunu vurgulamıştır. *P. cuspidatum*'un bu izole konumunu destekleyen morfolojik ve moleküler veriler bulunmaktadır (Harris, 2008; Wyatt & Odrzykoski, 2012).

Sonuç olarak, morfolojik veriler tür teşhisinde büyük ölçüde tutarlılık göstermektedir. Morfolojik verilere dayalı filogenetik analiz, literatürdeki morfolojik tanımlarla büyük ölçüde çalışmalarla tutarlılık göstermektedir. Ancak bazı tür çiftlerinde (örneğin *P. affine*–*P. elatum*, *P. medium*–*P. ellipticum*) gözlenen yüksek morfolojik benzerlikler, taksonomik sınıflandırmada moleküler verilerle desteklenmesi gereken alanlar olarak ortaya çıkmaktadır. Buna karşın *P. undulatum*, *P. rostratum* ve *P. cuspidatum* gibi türler hem karakteristik morfolojileri hem de istatistiksel ayrımları ile tür düzeyinde sağlam sınırlarla tanımlanabilmektedir. Bu bulgular, *Plagiomnium* cinsinin taksonomisinde mikro-morfolojik karakterlerin sistematikteki yerini bir kez daha ortaya koymaktadır.

4.2. Moleküler Analiz

Briyofit sistematiğinde moleküler verilerin kullanımı, özellikle morfolojik olarak ayrımı güç olan türlerin filogenetik ilişkilerinin ortaya konmasında oldukça değerli sonuçlar sunmaktadır. Bu çalışmada, *Plagiomnium* cinsine ait yedi türün (*P. affine*, *P. elatum*, *P. medium*, *P. ellipticum*, *P. rostratum*, *P. cuspidatum* ve *P. undulatum*) moleküler düzeyde karşılaştırılması amacıyla farklı evrimsel sinyaller taşıdığından, genetik mesafelerin türleşme, poliploidi ve filogenetik izolasyon gibi süreçlerle ilişkisi literatürde sıklıkla tartışılan iki moleküler belirteç tipi (cpDNA *trnL*-F ve nrDNA ITS2) (Shaw, 2000; Stech & Quandt, 2010) kullanılmıştır. Elde edilen diziler hem ayrı ayrı hem de birleştirilmiş veri seti halinde filogenetik analizlere tabi tutulmuş; türler arası genetik mesafeler hesaplanmış ve filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

4.2.1. Genetik Mesafeler

Genetik mesafeler, türler arası evrimsel farklılaşmanın ölçümünde önemli göstergelerdir. Bu çalışmada kullanılan üç veri seti (cpDNA *trnL*-F, nrDNA ITS2 ve birleşik veri seti), türler arası varyasyon düzeylerini kıyaslama imkânı sağlamıştır.

Kloroplast DNA belirteçleri, özellikle *trnL*-F bölgesi, kararlı yapısı ve anasal kalıtımı nedeniyle birçok briyofit çalışmasında çokça tercih edilmiştir (Shaw vd., 2005). *trnL*-F bölgesi, nispeten düşük varyasyon oranına sahip olsa da, bu çalışmada tespit edilen 24 değişken bölgeden 22'sinin bilgi verici olması, bu bölgenin *Plagiomnium* içi filogenetik ayrımı destekleyebileceğini göstermektedir. Belirlenen tür içi düşük genetik mesafeler (Tablo 8, 10) tür içi homojenliğin göstergesidir. Birbirine en yakın genetik mesafede olan *P.*

affine ve *P. elatum* (0,0026, Tablo 8), yakın akrabalığı ve muhtemelen kısa zaman önce ayrılmış olabileceklerini düşündürmektedir. En yüksek genetik mesafe, *P. undulatum* ile *P. cuspidatum* (0,0390, Tablo 8) arasında gözlenmiş olup bu iki türün uzun süredir izole evrimsel yollarda geliştiklerini işaret etmektedir. Öte yandan, morfolojik olarak farklı (Wyatt vd., 1992) olsalar da cpDNA *trnL-F* dizilerine dayalı olarak *P. medium* – *P. ellipticum* arasında belirgin bir genetik ayrım görülmemiştir (Şekil 15, 16, 17). Bu durum, cpDNA'nın yakın akraba türlerin ayrıştırılmasında sınırlı ama eski ayrımların tespiti için uygun olması (Goffinet vd., 2004; Quandt ve Stech, 2004) ve sadece maternal soy çizgisini yansıttığı için cpDNA'nın tek başına kullanımı, melezleşme, genetik sürüklenme ve horizontal transfer gibi olayları gözden kaçırabilmesi (McCauley vd., 2007; Yan vd., 2018) ile açıklanabilir. Analiz edilen DNA bölgesi itibarıyla evrim oranlarının homojen olduğunu varsaydığından tutarsız sonuçlar verebilen maksimum tutumluluk analizi (Kolaczowski & Thornton, 2004) yardımıyla elde edilen *trnL-F* ağacı iki farklı tRNA kodlayan bölgeyi içerdiğinden evrimsel süreçleri daha gerçekçi modellerle ifade ettikleri bilinen maksimum olabilirlik ve bayesian çıkarsama (Felsenstein 1978; Huelsenbeck, 1995; Sullivan & Swofford, 2001; Yang & Rannala, 2012) analizlerinden elde edilen ağaçlara kıyasla kısmen daha farklı topolojiler sunmuştur (Şekil 15, 16, 17) ve bu nedenle, nükleer DNA bölgeleri ile kıyaslama yapılırken ML ve BI algoritmalarından elde edilen ağaç topolojileri genel olarak referans alınmıştır.

Nükleer ribozomal DNA'nın içsel kopyalama bölgesi (ITS), özellikle ITS2 kısmı, hızlı evrimleşme oranı sayesinde tür düzeyinde ayrımların yapılmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Feliner & Rosselló, 2007). Bu çalışmada ITS2 verisi, cpDNA'ya kıyasla daha yüksek varyasyon gösterdiğinden hem tür içi hem de türler arası varyasyon açısından cpDNA'ya göre çok daha fazla fark sunmuştur. Tür içi mesafeler yine 0,0000 (*P. affine*, *P. rostratum* ve *P. cuspidatum*) ile 0,0137 (*P. elatum*) arasında değişmiştir. *P. elatum*'un tür içi çeşitliliği dikkat çekici olup, bazı çalışmalarda filogenetik olarak stabil bir tür olarak görünse de (Koponen, 1971; Wyatt vd., 1994), geniş coğrafik dağılımı nedeniyle coğrafi izolasyon sonucu oluşan lokal adaptasyonlara ve dolayısıyla moleküler düzeyde tür içi farklılığa olanak sağlayan düşük ama anlamlı düzeyde varyasyon gösterebileceği rapor edilmiştir (Jankowiak-Siuda vd., 2008). Çalışılan *Plagiomnium* türleri arasındaki nrDNA ITS2 temelli türler arası genetik mesafeler cpDNA *trnL-F*'dekilere kıyasla çok daha yüksek olup türler arası düzeyde ayrım gücünü ortaya koymaktadır. Bu durum, Gurushidze vd. (2010)'nin nükleer belirteçlerin rekombinasyona açık yapısı nedeniyle daha fazla varyasyon taşıdığı ve

daha hassas ayırım sağladığını görüşünü desteklemektedir. Öte yandan, ITS verileri genellikle melezleşme olaylarını tespit etmekte daha etkilidir çünkü her iki ebeveynin katkısını yansıtabilir (Sang vd., 1995). Özellikle, *P. medium* – *P. ellipticum* arasında tespit edilen nispeten düşük genetik mesafe (0,0258, Tablo 9) bu iki türün evrimsel olarak çok yakın olduğunu göstermekte (Şekil 18, 19, 20) ve Wyatt vd. (1988) tarafından ortaya konan allopoliploid köken hipotezini desteklemektedir. ITS2 veri setindeki tür içi mesafe değerleri de oldukça anlamlıdır. *Plagiomnium elatum*'un tür içi mesafesi 0,0137 ile dikkate değer düzeyde yüksektir. Bu, popülasyon düzeyinde yüksek genetik çeşitliliği veya henüz tamamlanmamış türleşme süreçlerini işaret ediyor olabilir. Benzer bulgular, Avrupa briyofitlerinde yerel uyum ve mikro evrimsel farklılaşmalara atfedilmiştir (Hassel vd., 2005).

cpDNA'nın maternal kalıtımı ve ITS2'nin biparental aktarımı nedeniyle elde edilen farklar, türleşmenin yönü ve evrimsel geçmişi hakkında tamamlayıcı bilgiler sunmaktadır (Shaw vd., 2005; Quandt ve Stech, 2005). Bu bağlamda, kombine veri seti (cpDNA + ITS2) analizlerinde tür içi genetik mesafeler 0,0000 ile 0,0137 (Tablo 10) arasında, türler arası mesafeler ise 0,0151 (*P. affine* – *P. elatum*) ile 0,1496 (*P. undulatum* – *P. elatum*) (Tablo 10) arasında değişmekte olup hem plastid hem de nükleer belirteçlerin avantajlarını bir araya getirerek türler arası farklılaşmayı daha net ortaya koymuştur. Özellikle *P. cuspidatum*'un diğer tüm türlere olan genetik mesafesinin yüksek oluşu, bu türün evrimsel olarak uzak ve muhtemelen eski bir soya ait olduğunu işaret etmektedir. Veri setimiz itibarıyla en yüksek türler arası mesafe (*P. cuspidatum* ve *P. undulatum* için 0,1496, Tablo 10), iki farklı genetik belirteçten gelen tutarlı sinyallerin birleştirilmesiyle elde edilmiştir. Kombine veriler ayrıca düşük varyasyon gösteren çiftler (*P. medium* – *P. ellipticum* için 0,0157, Tablo 10) için de daha net bir ayırım sağlamıştır. Dolayısıyla bu bulgularımız, Linder ve Rieseberg (2004)'in “Çoklu gen veri setlerinin retiküle (ağsı) evrimsel ilişkilerde daha açıklayıcı olduğu” görüşünü destekler niteliktedir.

4.2.2. Filogeni

Plagiomnium cinsine ait yedi türün (*P. affine*, *P. elatum*, *P. ellipticum*, *P. medium*, *P. rostratum*, *P. undulatum* ve *P. cuspidatum*) kloroplast (cpDNA *trnL-F*), nükleer (nrDNA ITS2) ve birleştirilmiş veri seti (cpDNA *trnL-F* + nrDNA ITS2) dizilerine dayalı filogenetik analizlerinden elde edilen filogenetik ağaçlar (Şekil 15-23) büyük ölçüde birbiriyle tutarlılık

göstermekte olup Wyatt vd., (1988) ve Koponen & Sun (2016)'nin çalışmalarında ortaya konan cins içi türleşme süreci ve taksonomik sınıflandırmalarla uyum içerisinde. Ayrıca, Harris (2008), cpDNA ve nrDNA dizilerinden elde edilen ağaçlardaki topolojik farklılıkların neden olduğu çelişkili filogenetik sinyallere dikkat çekmesine rağmen, bu çalışmada kullanılan iki farklı belirteç genel olarak uyumlu sonuçlar sunmuştur. Bu durum, çalışmamızda kullanılan örneklerin filogenetik sinyal açısından güçlü olduğunu ve bölgesel türleşme süreçlerini yansıttığını göstermektedir.

Her iki genetik belirtece dayalı filogenetik analizler, *P. affine* ve *P. elatum*'u düşük genetik mesafe (cpDNA trnL-trnF: $0,0026 \pm 0,0024$; nrDNA ITS2: $0,0395 \pm 0,0127$, Kombine veri seti: $0,0151 \pm 0,0054$, Tablo 9, 10, 11) ve yüksek destek değerleri (BI BPP = 1.0, MP BS = 100, ML BS = 100, Şekil 21, 22, 23) ile iki ayrı grup şeklinde birbirine en yakın genetik mesafede türler olarak birinci kladı oluşturacak şekilde gruplandırmıştır. Daha önce, Koponen & Sun (2016) tarafından yapılan moleküler çalışmalar da *P. affine* ve *P. elatum*'un monofiletik bir grup oluşturduğunu ve büyük olasılıkla yakın bir ortak ataya sahip olduklarını rapor edilmişti. Bu iki tür arasındaki düşük genetik mesafe ve yakın filogenetik ilişki, daha önce yapılan morfolojik (Mamczarz, 1974) ve kimyasal (Wyatt vd., 1991) verilerle bildirilen yakın akrabalık ilişkilerini moleküler düzeyde doğrulamaktadır. Dolayısıyla, çalışmamız *P. affine* ve *P. elatum* arasındaki filogenetik yakınlığı moleküler düzeyde doğrulamakta ve önceki bulgularla tutarlı kanıtlar sunmaktadır.

Filogenetik ağaçlarımızda ikinci kladı oluşturan *P. medium* ve *P. ellipticum*'un düşük genetik mesafeye sahip olması (cpDNA trnL-F: $0,0038 \pm 0,0022$; nrDNA ITS2: $0,0258 \pm 0,0105$, Kombine veri seti: $0,0157 \pm 0,0040$, Tablo 8, 9, 10) ve filogenetik ağaçta birbirine yakın ancak ayrı dallarda konumlanmış olması, Wyatt vd. (1988, 1992)'e göre *P. medium*'un *P. ellipticum*'dan türemiş allopoliploid bir tür olduğunu ve *P. ellipticum*'un bu türün ata türlerinden biri olabileceğini ileri sürmüştür. *P. medium*'un hem morfolojik hem de genetik olarak melez özellikler taşıması bu türün karmaşık evrimsel geçmişine işaret etmektedir. Özellikle trnL-F dizilerine dayalı maksimum olabilirlik ve maksimum tutarlılık analizinden elde edilmiş filogenetik ağaç topolojileri (Şekil 15, 16), ITS2 temelli analizler (Şekil 18, 19, 20) ile karşılaştırıldığında tutarsızlık göstermektedir. *P. medium* gibi allopoloid türlerde, nükleer DNA iki ebeveyni temsil edebilirken, kloroplast DNA (cpDNA) sadece anne ebeveynden miras alınır. Eğer *P. medium*'un oluştuğu melezleşme olayında anne ebeveyn *P. insigne* ise, cpDNA trnL-F dizisi *P. insigne*'e benzer olacaktır, bu da *P. medium*'un *P. ellipticum*'dan uzak bir konumda yer almasına neden olur. Dolayısıyla,

cpDNA, melez türün genetik geçmişinin yalnızca anne tarafını yansıttığı için, *P. medium* cpDNA ağacında *P. ellipticum*'dan uzak konumlanabilir.

Üçüncü kladı oluşturan *P. rostratum*, diğer tüm türlerden görece yüksek genetik mesafe (Tablo 9, 10, 11) ile ayrılmış olması ve filogenetik ağaç konumlanmaları (Şekil 15-23) bu türün bağımsız bir evrimsel çizgiye sahip izole bir soy oluşturduğu görüşünü desteklemektedir. *P. rostratum*'un Harris (2008)'de yüksek destekli klad oluşturması ve tutarlı diploid ($n = 12$) olduğuna dair çalışmalar (Chatterjee & Gangulee, 1970; Bryan, 1973; Wigh, 1972b) *P. rostratum*'un filogenetik ağaçtaki konumu (Şekil 15-23) desteklemektedir.

Dördüncü klad olan *P. undulatum* ise tüm analizlerde uzun bir dal oluşturmuştur (Şekil 15-23), bu da bu türün ya eski bir soy olduğunu ya da yüksek evrimsel hızla farklılaştığını düşündürmektedir. Genetik mesafe düzeylerinin analizlerinde diğer *Plagiomnium* türleri ile *P. undulatum* arasında belirlenen en yakın genetik mesafeler [cpDNA *trnL-F*: $0,0201 \pm 0,0067$ (*P. ellipticum* ile); nrDNA ITS2: $0,2474 \pm 0,0306$ (*P. rostratum* ile); Kombine veri seti: $0,1020 \pm 0,0112$ (*P. rostratum* ile), Tablo 8, 9, 10), bu izolasyonu doğrulamaktadır. Harris (2008), bu türde uzun dal çekimi gibi metodolojik hataların ortaya çıkabileceğini belirtmiştir. Ancak, bu çalışmada kullanılan farklı filogenetik yöntemlerin (Şekil 15-23) tümünde *P. undulatum*'un bağımsız bir klad oluşturması, bu türün özgün evrimsel birim olarak kabul edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Beşinci ve en bazal (ilk ayrılan) durumlu klad olan *P. cuspidatum*, filogenetik analizlerde diğer türlerden yüksek genetik mesafe (Tablo 8, 9, 10) ve yüksek destek değerleriyle (Şekil 15-23) ayrılmıştır. Bu durum, onun cins içindeki diğer türlerle erken ayrılmış, evrimsel olarak uzun süredir izole ve yüksek düzeyde atasal karakter taşıyan bir soy olduğunu göstermektedir. *Bulgularımız*, *P. cuspidatum*'un allopoliploid kökenli olduğunu bildiren Wyatt vd. (2021) ile de uyumludur; söz konusu çalışmada kloroplast verileri *P. floridanum*'u anasal, *P. decursivum*'u ise diğer ebeveyn olarak önermiştir. Allopoliploidi durumlarında nükleer ve kloroplast belirteçler sıklıkla farklı ata sinyalleri verebilse de, her iki belirteçte de *P. cuspidatum*'un tutarlı biçimde bazal konumda yer alması, bu kökenin ağaca kararlı bir şekilde yansıdığını göstermektedir. Dolayısıyla bazal konum, yalnızca erken ayrılmayı değil, aynı zamanda melezleşme-temelli poliploidi geçmişin filogenetik bir izini de yansıtır olabilir; bu yorum, poliploid taksonlarda bazal yerleşimin köken karmaşıklığı ile ilişkili olabileceğini bildiren önceki çalışmalarla da (Soltis vd., 2008) uyumludur.

4.3. Morfolojik ve Moleküler Verilerin Birlikte Analizi

Bryophyta içinde yer alan *Plagiomnium* cinsi hem morfolojik hem de moleküler varyasyon açısından karmaşık taksonomik örüntüler sergileyen bir gruptur. Bu çalışmada, yedi *Plagiomnium* türüne ait morfolojik karakterlerin çok değişkenli istatistiksel yöntemlerle (PCA, UPGMA) değerlendirilmesi ve aynı türlerin ITS2 ve *trnL*-F dizilerine dayalı moleküler analizlerle karşılaştırılması, türlerin evrimsel ilişkileri hakkında bütüncül bir bakış açısı sağlamıştır.

Morfolojik düzeyde, özellikle yaprak morfolojisi, diş yapısı ve bordür hücrelerinin konfigürasyonu gibi karakterler türlerin ayrımında önemli rol oynamıştır. *P. affine* ile *P. elatum* ve *P. medium* ile *P. ellipticum* tür çiftleri gerek yaprak şekli gerekse laminal hücre organizasyonu açısından büyük ölçüde benzerlik göstermiştir. PCA analizinde bu çiftlerin aynı morfolojik ekseninde konumlanması, istatistiksel olarak da desteklenmiştir. Bu bulgular, Wyatt & Odrzykoski (1998) ve Koponen & Sun (2016) gibi araştırmacıların, özellikle *P. medium* ve *P. ellipticum* gibi türler arasında geçiş formlarına dikkat çektiği çalışmalarla örtüşmektedir.

Bununla birlikte, moleküler analizler aynı tür çiftlerinde önemli bir ayrışmaya işaret etmektedir. *P. medium* ile *P. ellipticum*, morfolojik olarak oldukça benzer görünmelerine rağmen ITS2 dizilerine dayalı analizlerde daha yüksek genetik mesafelerle ayrılmıştır. Bu farklılık, *trnL*-F gibi yavaş evrimleşen cpDNA bölgeleri ile ITS2 gibi hızlı evrimleşen nükleer bölgelerin farklı filogenetik sinyaller vermesiyle açıklanabilir (Shaw vd., 2005; Quandt ve Stech, 2004). Bu durum, homoplazi veya morfolojik konvergent olasılığını artırmakta; dolayısıyla taksonomik sınıflandırmalarda moleküler verilerin tamamlayıcı bir rol üstlenmesini zorunlu kılmaktadır.

Öte yandan, hem morfolojik hem moleküler verilerin tutarlılık gösterdiği türler de mevcuttur. Özellikle *P. undulatum*, yaprak kenarlarının dalgalı (undulate) yapısı ve üç sıralı bordür hücre organizasyonu ile morfolojik olarak izole bir konuma sahiptir. Bu tür, aynı zamanda ITS2 ve *trnL*-F verilerine dayalı filogenetik ağaçlarda da uzak bir klad içerisinde yer almıştır. Bu bulgular, *P. undulatum*'un *Plagiomnium* içinde filogenetik olarak erken ayrılan bir soy olabileceğine işaret etmektedir. Koponen (1971) ve Harris (2008), bu türün hem morfolojik hem genetik düzeyde farklılaşmış karakterleri taşıdığını vurgulamaktadır.

P. cuspidatum da benzer şekilde çift yönlü uyum sergileyen bir diğer örnektir. Sivri yaprak ucu (cuspidate) ve sadece yaprağın üst kısmında yer alan dişleriyle morfolojik olarak

ayrıışan bu tür, filogenetik analizlerde bazal konumda yer alarak genetik olarak da cinsin diğer üyelerinden uzaklaşmıştır. Wyatt vd. (2021)'in *P. cuspidatum*'un allopoloidi kökeninden kaynaklı farklı atalara sahip olduğunu göstermesi, bu çalışmamızda yapılan ayrı soy değerlendirmesini desteklemekte olup, türün bazal konumu yorumlanırken bu köken karmaşıklığının olası etkileri göz önünde bulundurulmalıdır.

P. rostratum ise tartışmalı bir örnek teşkil etmektedir. Morfolojik olarak özgün karakterler taşımakla birlikte, bazı analizlerde orta konumda yer alarak hem *P. medium* – *P. ellipticum* hem de *P. affine* – *P. elatum* çiftlerine yakınlık göstermektedir. Moleküler olarak ise bu tür, birleşik veri setlerinde orta düzeyde genetik uzaklıklarla temsil edilmiş ve net bir filogenetik pozisyon ortaya koymamıştır. Bu durum, *P. rostratum*'un polifiletik olabileceği veya yüksek oranda genetik çeşitlilik barındırdığı olasılığını akla getirmektedir. Çalışmamız, Harris (2008)'in *P. rostratum*'un istikrarlı bir filogenetik konum göstermediğine dair bulgularıyla örtüşmektedir.

Morfolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanımı, *Plagiomnium* cinsi içindeki türlerin evrimsel ilişkilerinin daha net bir şekilde ortaya konmasına katkı sağlamaktadır. Ancak bazı türlerde morfolojik yakınlıkların moleküler düzeyde tam karşılık bulmaması, çevresel etkenlerin morfolojik karakterler üzerinde yarattığı plastisiteyi ve homoplaziye göz önüne almayı zorunlu kılmaktadır (Shaw, 2001; Vanderpoorten & Goffinet, 2009).

Türkiye’de briyofitlerin moleküler sistematığına yönelik çalışmalar oldukça sınırlı olmakla birlikte, son yıllarda bu alanda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu kapsamda Kırmacı vd., (2022) tarafından gerçekleştirilen *Sphagnum* L. seksiyonunun moleküler analizi, Türkiye’de briyofit sistematığı üzerine yapılan ilk moleküler çalışma olarak literatürde yer almıştır. Bunu, Özen Öztürk’ün (2023) “Türkiye’de Yayılış Gösteren Bazı *Sphagnum* L. Taksonlarının Biyosistematik Yönden İncelenmesi” başlıklı doktora tezi izlemiş ve ülkemiz briyofit florasının moleküler düzeyde değerlendirilmesine öncülük etmiştir. Bu tez ise, söz konusu öncü çalışmaların devamı niteliğinde, Türkiye’de briyofitlerin moleküler temelde tanımlanmasına odaklanan ikinci tez ve *Plagiomnium* cinsi üzerinde gerçekleştirilen ilk moleküler filogenetik inceleme olma özelliğini taşımaktadır. Bu yönüyle çalışma, ülkemizde briyofit sistematığı alanına hem yöntemsel hem de taksonomik bakımdan tamamlayıcı nitelikte özgün bir katkı sunmaktadır.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, *Plagiomnium* cinsine ait yedi türün (*P. affine*, *P. elatum*, *P. medium*, *P. ellipticum*, *P. rostratum*, *P. undulatum*, *P. cuspidatum*) morfolojik ve moleküler karakterleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve aşağıdaki genişletilmiş sonuçlara ulaşılmıştır:

5.1. Morfolojik Verilere Dayalı Sonuçlar

- Çok değişkenli istatistiksel analizler (Hiyerarşik kümeleme ve PCA), *P. affine* – *P. elatum* ve *P. medium*–*P. ellipticum* tür çiftlerinin morfolojik benzerlik taşıdığını göstermiştir. Bu türler, yaprak morfolojisi ve hücre yapıları açısından yüksek oranda örtüşen karakteristiklere sahiptir.
- *P. rostratum*, bazı analizlerde *P. medium*–*P. ellipticum* çiftine yakın konumlanmakla birlikte, genel olarak geçiş özellikleri sergileyen bir morfolojik ara form olarak değerlendirilmiştir.
- *P. cuspidatum*, sivri yaprak ucu, sınırlı diş yapısı ve izole bordür hücre organizasyonu ile morfolojik olarak diğer türlerden açıkça ayrılmıştır. PCA analizinde bu tür bağımsız bir eksenle konumlanmıştır.
- *P. undulatum*, özgün dalgalı yaprak kenarları ve üç sıralı bordür hücre dizilimi ile hem fenetik hem de sistematik olarak belirgin bir farklılık sergilemiştir. Bu tür, morfolojik olarak tanımlanmış en ayırık taksonlardan biridir.

5.2. Moleküler Verilere Dayalı Sonuçlar

- ITS2 ve *trnL-F* bölgelerine dayalı filogenetik analizler, türler arası evrimsel ilişkileri yüksek çözünürlükte ortaya koymuştur. Birleşik veri seti ile oluşturulan ağaçlar, diğerlerine göre daha yüksek destek değerleri sağlamıştır.
- *P. affine* ve *P. elatum*, hem morfolojik hem moleküler düzeyde kardeş türler olarak gruplandırılmıştır. Düşük genetik mesafeleri, taksonomik yakınlıklarını desteklemektedir.

- *P. medium* ve *P. ellipticum*, morfolojik olarak ayrılması zor iki türdür. Moleküler verilerde bu türler kardeş kladlarda yer almış, ancak özellikle *trnL-F* bölgesindeki varyasyon bu türlerin olası allopoliploid kökenli olabileceğine işaret etmiştir.
- *P. rostratum*, moleküler düzeyde geçiş formu olarak konumlanmış hem bazal türlere hem de daha türetilmiş kladlara ara genetik mesafe göstermiştir.
- *P. undulatum* da erken ayrılan türlerden biri olarak konumlanmış; morfolojik izolasyonu moleküler düzeyde de desteklenmiştir.
- *P. cuspidatum*, filogenetik ağaçlarda bazal pozisyonda yer almış ve cinsin evrimsel olarak erken ayrılan türü olduğunu göstermiştir. Bu durum, bu türün atasal karakteristikleri barındırabileceğini düşündürmektedir.

Genetik mesafe analizleri, filogenetik ağaçlarla uyumlu olarak *P. medium–ellipticum* yakınlığını ve *P. cuspidatum*'un uzak soy pozisyonunu doğrulamıştır. ITS2 bölgesi özellikle ayrıştırıcı güç göstermiştir.

5.3. Karşılaştırmalı ve Taksonomik Sonuçlar

- Morfolojik grupların büyük ölçüde moleküler verilerle örtüşmesi, klasik taksonomik karakterlerin tür düzeyinde güvenilirliğini desteklemektedir. Ancak bazı türlerde morfolojik benzerliğe rağmen moleküler düzeyde ayrışma görülmesi, konvergent evrim ve plastisite gibi süreçlerin etkisini düşündürmektedir.
- *P. medium–P. ellipticum* ikilisinde hem morfolojik hem moleküler benzerliğe rağmen belirli genetik farklılıkların bulunması, bu türlerin olası bir allopoliploid geçmişe veya eski melezleşme olaylarına sahip olabileceğini göstermektedir.
- *P. rostratum*'un geçiş form özelliği, hem morfolojik hem moleküler verilerde tekrar eden bir desen olarak görülmüş ve bu türün evrimsel olarak ara bir pozisyonda yer aldığı değerlendirilmiştir.
- *P. undulatum*'un özgün morfolojik yapısı ve filogenetik olarak erken ayrılması, çevresel adaptasyonlara bağlı olarak erken evrimleşen bir tür olabileceğini ortaya koymuştur.
- *P. cuspidatum*'un bazal pozisyonu, hem genetik uzaklık hem de morfolojik farklılıklarla desteklenmiş; bu türün evrimsel olarak atasal özellikler taşıdığı hipotezini güçlendirmiştir.

- Filogenetik ağaçlardaki genel destek değerleri, ITS2 ve *trnL*-F belirteçlerinin birlikte kullanımının evrimsel çözünürlük açısından etkili olduğunu kanıtlamıştır. Birleşik veri seti en yüksek destek değerlerine ulaşmıştır.

Sonuç olarak, morfolojik ve moleküler filogenetik verilerin birleşik kullanımı, *Plagiomnium* cinsinin sistematik yapısının daha sağlam temellere oturtulmasına katkı sağlamış; aynı zamanda gelecekteki evrimsel, filogenetik ve taksonomik çalışmalara yön verecek yeni soruların oluşmasını mümkün kılmıştır.



6. ÖNERİLER

Bu çalışmada *Plagiomnium* cinsine ait türler arasında moleküler düzeyde evrimsel ilişkiler ortaya konmuş olsa da cinsin sistematik yapısının tam olarak aydınlatılabilmesi için aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi önermekteyiz:

- *Plagiomnium* cinsinin taksonomik yapısının daha sağlam temellere oturtulabilmesi için geniş coğrafi yayılıma sahip daha fazla örnekleme yapılması gerekmektedir. Bu örnekleme, tür içi varyasyonları ve bölgesel farklılaşmaları ortaya koymak açısından önemlidir.
- Morfolojik karakterlerin çevresel etmenlerden etkilenebileceği göz önünde bulundurularak, bu karakterlerin güvenilirliğini artırmak amacıyla gelişmiş morfometrik tekniklerin kullanılması ve kantitatif analizlerin yapılması önerilmektedir.
- Olası allopoliploid kökenli türleri tanımlamak ve evrimsel tarihçelerini anlamak için sitogenetik çalışmalar (kromozom sayımı, floresan in situ hibridizasyon gibi) ve akış sitometrisi gibi teknikler destekleyici veri sağlayabilir.
- Mevcut iki belirteç bölgesine (ITS2 ve *trnL-F*) ek olarak, farklı genom bölgelerinden (örneğin mitokondriyal ve daha fazla nükleer gen bölgeleri) verilerin dahil edilmesi, filogenetik çözünürlüğü artıracaktır. Ayrıca, RADseq ve GBS gibi yeni nesil dizileme tekniklerinin kullanımı daha ayrıntılı filogenomik analizler yapılmasına olanak tanır.
- Bu türlerin yaşam alanlarının ekolojik özellikleri dikkate alınarak, çevresel değişkenlerin tür farklılaşmasına olan etkilerinin belirlenebilmesi için niş modelleme çalışmaları ve habitat bazlı karşılaştırmalar yapılmalıdır.
- Genetik çeşitliliğin korunması ve türleşme süreçlerinin anlaşılması için *Plagiomnium* türlerinin popülasyon yapılarının incelendiği, gen akışını ve izolasyon düzeylerini değerlendiren popülasyon genetiği temelli çalışmalar gerçekleştirilmelidir.
- Özellikle *P. cuspidatum*, *P. rostratum* ve *P. undulatum* gibi evrimsel olarak kritik konumda bulunan türler için daha fazla örnekleme ve genetik analiz yapılmalı; biyocoğrafik kökenleri ve tarihsel yayılımları filocoğrafik yöntemlerle araştırılmalıdır.

- Moleküler verilerin sağlamlığının artırılması için her türden birden fazla bireyin analizlere dahil edilmesi ve intra-spesifik varyasyonun ayrıntılı olarak değerlendirilmesi gereklidir.
- Tür tanımlama ve teşhis sürecinde moleküler barkodlama tekniklerinin, morfolojik tanımlarla entegre edilerek uygulanması, saha çalışmaları için daha güvenilir ve hızlı tür teşhisi sağlayacaktır.
- Taksonomik revizyonların sağlıklı yapılabilmesi için, sadece DNA dizilerine dayalı analizlerle sınırlı kalmayan, aynı zamanda biyolojik, ekolojik ve morfolojik verilerin entegre edildiği çok yönlü filogenetik yaklaşımlar geliştirilmelidir.
- Morfolojik verilerle örtüşmeyen moleküler sonuçların açıklanabilmesi için evrimsel hız farklılıkları, genetik sürüklenme, lokal adaptasyon ve hibridizasyon gibi süreçler detaylı olarak modellenmeli ve istatistiksel olarak test edilmelidir.
- Özellikle yakın akraba türler arasında filogenetik ayrışmanın zor olduğu durumlarda, mikrosatellit belirteçleri ve SNP tabanlı genotipleme yaklaşımları tercih edilerek ince ölçekli genetik yapı çözümlenmelidir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda herbaryum materyalleri ve tip örnekler de moleküler analizlere dahil edilerek, klasik taksonomik tanımlarla genetik tanımlar arasında doğrudan bağ kurulmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Abay, G., & Ursavaş, S. (2019). Çankırı ilinin briyofit listesi. *Anatolian Bryology*, 5(1), 56-64. doi:10.26672/anatolianbryology.520387
- Abay, G., Batan, N., & Özdemir, T. (2016). Bryophyte checklist of Rize, north-east Turkey. *Arctoa*, 25(2), 386-392. doi:10.15298/arctoa.25.31
- Abay, G., Erata, H., Batan, N., & Özdemir, T. (2022). Two new records for the bryophyte flora of Turkey and Southwest Asia. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156(4), 875-881. doi:10.1080/11263504.2021.1947407
- Ajmal Ali, M., Gyulai, G., Hidvégi, N., Kerti, B., Al Hemaïd, F. M., Pandey, A. K., & Lee, J. (2014). The changing epitome of species identification - DNA barcoding. *Saudi journal of biological sciences*, 21(3), 204-231. doi:10.1016/j.sjbs.2014.03.003
- Álvarez, I. J. F. W., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution*, 29(3), 417-434. doi:10.1016/S1055-7903(03)00208-2
- Angela, E., Newton, N., Niklas, Wikströmb., A., Jonathan, Shaw. (2009). Mosses (Bryophyta). *The Timetree of Life*, 138-145 doi:10.1093/oso/9780199535033.003.0012
- Ateş, M. A., Acar, P., Karaman, S., Mavi İdman, D. Ö., Körüklü, S. T., & Bani, B. (2022). Secondary Structure Form of ITS2 Region: A Significant Labeling Tool at all Taxonomic Levels. *Directorate National Botanical Garden of Türkiye*, 1(2): 37-43 doi:10.56494/dnbg.2022.6
- Ayhan, E., Batan, N., & Yilmaz, Z. G. (2024). Gülderen Şelalesi (Hayrat, Trabzon) Briyofitleri Üzerine Bir Araştırma. *Anatolian Bryology*, 10(2), 79-88. doi:10.26672/anatolianbryology.1537945
- Bahuguna, Y. M., Gairola, S. U. M. E. E. T., Semwal, D. P., Uniyal, P. L., & Bhatt, A. B. (2013). Bryophytes and ecosystem. *Biodiversity of lower plants*, 2013, 279-296.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., & Donoghue, M. J. (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri botanical garden*, 247-277. doi:10.2307/2399880
- Ballı, Z. D., Ezer, T., Ünal, B. T., & İşlek, C. (2019). Plagiomnium undulatum (Bryopsida) Ekstraktlarının Yabani Yulaf'ın Fide Gelişimi Üzerine Allelopatik Etkisi. *Anatolian Bryology*, 5(2), 130-137. doi:10.26672/anatolianbryology.639352
- Batan, N., & ÖZDEMİR, T. (2013). Contributions to the moss flora of the Caucasian part (Artvin Province) of Turkey. *Turkish journal of botany*, 37(2), 375-388. doi:10.3906/bot-1201-49

- Batan, N., Alataş, M., Ezer, T., Erata, H. (2021). Altındere Vadisi (Maçka, Trabzon) Briyofit Florasına Epifitik Katkılar. *Anatolian Bryology*, 7(1), 8-16. doi:10.26672/anatolianbryology.811769
- Batan, N., Erata, H., Alataş, M., Ezer, T., Özcan, O., & Taşci, N. (2024). Karçal Dağları Briyofit Florası (Artvin, Türkiye). *Anatolian Bryology*, 10(2), 120-151. doi:10.26672/anatolianbryology.1567770
- Batan, N., Erata, H., Özen, Ö., Özdemir, T., & Alataş, M. (2017). The bryophyte flora of Ardahan province (Turkey). *Arctoa*, 26(2), 187-197. doi:10.15298/ARCTOA.26.18
- Batan, N., Özcan, O., & Özdemir, T. (2014). New Bryophyte Records from Turkey and Southwest Asia. *Telopea*, 17, 337-346. doi:10.7751/telopea20147916
- Bayer, R. J., & Starr, J. R. (1998). Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two non-coding chloroplast sequences, the trnL intron and trnL/trnF intergenic spacer. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 242-256. doi:10.2307/2992008
- Bouckaert, R., Vaughan, T. G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A., Heled, J., Lunter, G., Matzke, N. J., Mendes, F. K., Müller, N. F., Ogilvie, H. A., du Plessis, L., Poppinga, A., Rambaut, A., Rasmussen, D., Siveroni, I., Suchard, M. A., Wu, C.-H., Xie, D., Zhang, C., Stadler, T., Kühnert, D., Piñeiro, D. C., Welch, D., Balaban, M., Lemey, P., Bedford, T., Drummond, A. J. (2019). BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4), e1006650. doi:10.1371/journal.pcbi.1006650
- Bryan, V. S. (1973). Chromosome studies on mosses from Austria, Czechoslovakia and other parts of central Europe. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, 121(3), 187-226. doi:10.1007/BF01373972
- Bryant, D., Galtier, N., & Poursat, M. A. (2007). Likelihood calculation in molecular phylogenetics. *Mathematics of Evolution and Phylogeny*, 33-46. doi:10.1093/oso/9780198566106.003.0002
- Cano, M. J., & Guerra, J. (2006). Novedades corológicas para la flora briofítica ibérica. *Anales de Biología*, 28, 123-125.
- Cengiz, A., Ursavaş, S., & Alataş, M. (2019). Balya orman İşletme şefliği (Balıkesir) karayosunu florası. *Anatolian Bryology*, 5(1), 35-44. doi:10.26672/anatolianbryology.520812
- Chatterjee, A.K., Gangulee, H. C., 1970. Cytological studies on the mosses of eastern India, *VI. Karyotypes*. – *Nucleus*, 13:118-125.
- Chen, K. H., & Nelson, J. (2022). A scoping review of bryophyte microbiota: diverse microbial communities in small plant packages. *Journal of experimental botany*, 73(13), 4496-4513. doi:10.1093/jxb/erac191
- Chen, Z. Y., Hua, Z. Y., & Yuan, Y. (2024). Establishment and application of chloroplast genome database with the largest number of species in world. *Zhongguo Zhong yao za*

zhi= *Zhongguo zhongyao zazhi*= *China journal of Chinese materia medica*, 49(23), 6257-6263. doi:10.19540/j.cnki.cjcmm.20240909.101

- Clegg, M. T., Gaut, B. S., Learn Jr, G. H., & Morton, B. R. (1994). Rates and patterns of chloroplast DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(15), 6795-6801. doi:10.1073/pnas.91.15.6795
- Coleman, A. W. (2007). Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure. *Nucleic acids research*, 35(10), 3322-3329. doi:10.1093/nar/gkm233
- Cortini Pedrotti, C. (2001). Flora dei muschi d'Italia: Sphagnopsida, Andreaeopsida, Bryopsida (I parte). Antonio Delfino Editore.
- Cronberg, N., Andersson, K., Wyatt, R., & Odrzykoski, I. J. (2003). Clonal distribution, fertility and sex ratios of the moss *Plagiomnium affine* (Bland.) T. Kop. in forests of contrasting age. *Journal of Bryology*, 25(3), 155-162. doi:10.1179/037366803235001625
- Çalışkan, S., Ören, M., & Ursavaş, S. (2019). Bafra İlçesi'nin (Samsun) Briyofit Florası. *Anatolian Bryology*, 5(2), 74-84. doi:10.26672/anatolianbryology.543040
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. https://doi.org/10.1038/nmeth.2109
- Davey, M. L., & Currah, R. S. (2006). Interactions between mosses (Bryophyta) and fungi. *Botany*, 84(10), 1509-1519. doi:10.1139/b06-120
- Demirayak, F. (2023). Biyolojik çeşitlilik-doğa koruma ve sürdürülebilir kalkınma. *Tübitak vizyon*, 30.
- Dereli, B.N. (2024). *Plagiomnium Rostratum* (Schrad.) ve *Plagiomnium Medium* (Bruch & Schimp.) Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Desper, R., & Gascuel, O. (2005). The Minimum-Evolution Distance-Based Approach to Phylogeny Inference. *Mathematics of Evolution and Phylogeny*, 1-32. doi:10.1093/oso/9780198566106.003.0001
- Dobrogojski, J., Adamiec, M., & Luciński, R. (2020). The chloroplast genome: a review. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(6), 98. doi:10.1007/s11738-020-03089-x
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 214. doi:10.1186/1471-2148-7-214
- Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J., & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS biology*, 4(5), e88. doi:10.1371/journal.pbio.0040088

- Düzeltlen Ballı, Z., Ezer, T., Ünal, B. T., & İşlek, C. (2018). Plagiomnium undulatum (Bryophyta) Ekstraktlarının Sinapis arvensis' in Fide Gelişimi Üzerine Etkileri. *Anatolian Bryology*, 4(2). doi:10.26672/anatolianbryology.467328
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., & Adıgüzel, N., (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı* . Ankara: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği.
- Erata, H., & Batan, N. (2022). Additional bryophyte records from Dereli district (Giresun, Turkey). *Anatolian Bryology*, 8(2), 86-95. doi:10.26672/anatolianbryology.1161590
- Erata, H., Batan, N., Abay, G., & Özdemir, T. (2021). Anzer Vadisi ve Çevresinin Briyofit Florası (İkizdere, Rize). *Anatolian Bryology*, 7(2), 131-145. doi:10.26672/anatolianbryology.993644
- Erata, H., Batan, N., Özen, Ö., & Alataş, M. (2020). Contributions to the bryophyte flora of Şalpazarı and Tonya districts (Trabzon, Turkey). *Phytologia Balcanica*, 26(1), 71-79. doi:10.25227/linbg.01127
- Erata, H., Özen, Ö., Batan, N., & Özdemir, T. (2017). Karadeniz Teknik Üniversitesi Kanuni Kampüsü Briyofit Florası. *Anatolian Bryology*, 3(1), 9-18. doi:10.26672/anatolianbryology.305683
- Erdağ, A. & Kürschner, H., (2017). A reference list of Turkish bryophytes. The state of knowledge from 1829 until 2017, *Anatolian Bryology*, 3, 2, 81-102. doi:10.26672/anatolianbryology.343242
- Ezer, T., Uygur, A., Keskin, A., Çulha, H., Batan, N., & Alataş, M. (2024). European endemic Ptychostomum minii (Bryaceae, Bryophyta)-new to Turkey and its significant range extention to SW Asia. *Botanica Serbica*, 48(1), 79-84. doi:10.2298/BOTSERB2401079E
- Ezer, T., Yılmaz, T., İşlek, C., & Türkyılmaz-Ünal, B. (2016). Impact of heavy metals (zinc and lead) on the photosynthetic pigment contents of Bryum schleicheri and Plagiomnium undulatum (Bryophyta). *Biol Divers Conserv*, 9, 122-127.
- Feliner, G. N., & Rosselló, J. A. (2007). Better the devil you know? Guidelines for insightful utilization of nrDNA ITS in species-level evolutionary studies in plants. *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(2), 911-919. doi:10.1016/j.ympev.2007.01.013
- Felsenstein, J. (1978). Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology*, 27(4), 401-410. doi:10.2307/2412923
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791. doi:10.2307/2408678
- Frey, W., Frahm, J.-P., Fischer, E., & Lobin, W. (2006). The Liverworts, Mosses and Ferns of Europe. *Elsevier*. doi:10.1163/9789004475434
- Fuertes, E., & Oliván, G. (2008). Revisión de Plagiomnium (Plagiomniaceae, Bryopsida) en Argentina. *Bryophyte Diversity and Evolution*, 29(1), 60-70. doi:10.11646/bde.29.1.9

- Gernhard, T. (2008). The conditioned reconstructed process. *Journal of Theoretical Biology*, 253(4), 769–778. doi:10.1016/j.jtbi.2008.04.005
- Glime, J. M. (2024). Roles of bryophytes in forest sustainability—positive or negative?. *Sustainability*, 16(6), 2359. doi:10.3390/su16062359
- Goffinet, B., Hollowell, V. C., Magill, R. E., & Raven, P. H. (2004). *Molecular systematics of bryophytes*.
- Gómez-Menor, J. M., Fuertes, E., & Acón, M. (1999). Plagiomnium T. Kop.(Plagiomniaceae, Musci) en la Península Ibérica e Iles Balears. *Lazaroa*, 20, 11-28.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307–321. doi:10.1093/sysbio/syq010
- Gurushidze, M., Fritsch, R. M., & Blattner, F. R. (2010). Species-level phylogeny of Allium subgenus Melanocrommyum: incomplete lineage sorting, hybridization and trnF gene duplication. *Taxon*, 59(3), 829-840. doi:10.1002/tax.593012
- Güner, Ö., & Akçiçek, E. (2014). Ulus Dağı Balıkesir Türkiye'nin endemik ve nadir bitkileri. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 1(3), 32-38.
- Hao, D. C., Huang, B. L., Chen, S. L., & Mu, J. (2009). Evolution of the chloroplast trnL-trnF region in the gymnosperm lineages Taxaceae and Cephalotaxaceae. *Biochemical Genetics*, 47, 351-369. doi:10.1007/s10528-009-9233-7
- Harris, E. S. (2008). Paraphyly and multiple causes of phylogenetic incongruence in the moss genus Plagiomnium (Mniaceae). *Taxon*, 57(2), 417-433.
- Hassel, K., Sæstad, S. M., Gunnarsson, U., & Söderström, L. (2005). Genetic variation and structure in the expanding moss Pogonatum dentatum in its area of origin and in a recently colonised area. *American Journal of Botany*, 92(10), 1684-1690. doi:10.3732/ajb.92.10.1684
- Hassel, K., Segreto, R., & Ekrem, T. (2013). Restricted variation in plant barcoding markers limits identification in closely related bryophyte species. *Molecular Ecology Resources*, 13(6), 1047–1057. doi:10.1111/1755-0998.12074
- Hillis, D. M., & Bull, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, 42(2), 182–192. doi:10.1093/sysbio/42.2.182
- Hillis, D. M., & Dixon, M. T. (1991). Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly review of biology*, 66(4), 411-453. doi:10.1086/417338
- Horn, A., Pascal, A., Lončarević, I., Volpatto Marques, R., Lu, Y., Miguel, S., ... & Simonsen, H. T. (2021). Natural products from bryophytes: from basic biology to

- biotechnological applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 40(3), 191-217. doi:10.1080/07352689.2021.1911034
- Hřibová, E., Čížková, J., Christelová, P., Taudien, S., de Langhe, E., & Doležel, J. (2011). The ITS1-5.8 S-ITS2 sequence region in the Musaceae: structure, diversity and use in molecular phylogeny. *Plos one*, 6(3), e17863. doi:10.1371/journal.pone.0017863
- Huang, L., Wen, J., Crabbe, M. J. C., Chen, C., & Ren, Z. (2025). Complete chloroplast genome characterization of three Plagiomnium species and the phylogeny of family Mniaceae. *Genetica*, 153(1), 1-14. doi:10.1007/s10709-024-00217-0
- Huelsenbeck, J. P. (1995). Performance of phylogenetic methods in simulation. *Systematic Biology*, 44(1), 17-48. doi:10.2307/2413481
- Jankowiak-Siuda, K., Pacak, A., Odrzykoski, I., Wyatt, R., & Szweykowska-Kulińska, Z. (2008). Organellar inheritance in the allopolyploid moss Plagiomnium curvatulum. *Taxon*, 57(1), 145-152.
- Jobes, D. V., & Thien, L. B. (1997). A conserved motif in the 5.8 S ribosomal RNA (rRNA) gene is a useful diagnostic marker for plant internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(4), 326-334. doi:10.1023/A:1007462330699
- Kara, R., Ezer, T., Gözcü, M. C., & Bozdoğan, Ş. G. (2014). Bryophyte flora of Erciyes Mountain in Turkey, with 6 bryophyte records from the country. *Turkish Journal of Botany*, 38(4), 763–781. doi:10.3906/BOT-1311-25
- Karimi, Z., Mahmoudi Otaghvari, A., Zare, H., & Azizi, P. (2021). Biosystematics study of Plagiomnium in North of Iran. *Rostaniha*, 22(1), 89-103.
- Kaur, A., & Kaur, M. (2024). Construction Of Phylogenetic Tree Using UPGMA Method. 242–246. *Institute of Electrical and Electronics Engineers*, doi:10.1109/ic3i61595.2024.10828834
- Keskin, A., & Ezer, T. (2024). The Bryophyte Flora of a Collapse Doline in Niğde (Türkiye). *Anatolian Bryology*, 10(1), 42-48. doi:10.26672/anatolianbryology.1448554
- Keskin, A., Ezer, T., Alataş, M., & Karaman, S. (2022). The bryophyte flora of Karınca Mountain (Pozantı-Adana). *Phytologia Balcanica*, 28(3). doi:10.7546/PhB.28.3.2022.1
- Kırmacı, M., & Çatak, U. (2020). Epiphytic Bryophyte Flora of Liquidambar orientalis Forests. *Anatolian Bryology*, 6(2), 70-77. doi:10.26672/anatolianbryology.715769
- Kırmacı, M., Özenoğlu, H., Armağan, M., Aslan, G., et al. (2022). The Bryophyte Flora of Van Lake and Environs (Van/Türkiye). *Anatolian Bryology*, 8(2), 73-85. doi:10.26672/anatolianbryology.1136373
- Kırmacı, M., Semiz, A., Sari, A., Acar, Ö. Ö., Çatak, U., & Filiz, F. (2022). Molecular analysis of the section Sphagnum (Sphagnaceae): First study on Turkish Bryophytes

- using nucleotide sequences of the trnL intron region. *Turkish Journal of Botany*, 46(5), 490-499. doi:10.55730/1300-008X.2724
- Koetschan, C., Förster, F., Keller, A., Schleicher, T., Ruderisch, B., Schwarz, R., ... & Schultz, J. (2010). The ITS2 Database III-sequences and structures for phylogeny. *Nucleic acids research*, 38(1), 275-279. doi:10.1093/nar/gkp966
- Kolaczowski, B., & Thornton, J. W. (2004). Performance of maximum parsimony and likelihood phylogenetics when evolution is heterogeneous. *Nature*, 431(7011), 980-984. doi:10.1038/nature02917
- Koponen, T. (1968). Generic revision of Mniaceae Mitt.(Bryophyta). In *Annales Botanici Fennici*, 117-151.
- Koponen, T. (1971). A monograph of Plagiomnium sect. Rosulata (Mniaceae). In *Annales Botanici Fennici*, 305-367.
- Koponen, T. (1972). *The East Asiatic species of Plagiomnium sect. Rostrata (Bryophyta)*. Helsinki: *Societas Pro Fauna et Flora Fennica*.
- Koponen, T. (1981). A synopsis of Mniaceae (Bryophyta). V. Taxa in Africa south of the Sahara. *Annales Botanici Fennici*, 18(2), 105-111.
- Koponen, T. (1982). The family Mniaceae in Australasia and the Pacific. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 52, 75-86.
- Koponen, T. (1983). A synopsis of Mniaceae (Bryophyta). VIII. Taxa in Australia and New Zealand. *Annales Botanici Fennici*, 20(2), 101-104.
- Koponen, T. (1993). Miscellaneous notes on Mniaceae (Bryophyta). XVI. *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T. Kop. in Ethiopia. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique / Bulletin van de Nationale Plantentuin van België*, 62(1/2), 397-402.
- Koponen, T., & Sun, Y. (2016). Preliminary study on phylogenetic position and delimitation of the ciliate arthrodontous genera of the moss family Mniaceae. *Journal of Bryology*, 39(1), 23-38. doi:10.1080/03736687.2016.1177160
- Kutnar, L., Kermavnar, J., & Sabovljević, M. S. (2023). Bryophyte diversity, composition and functional traits in relation to bedrock and tree species composition in close-to-nature managed forests. *European Journal of Forest Research*, 142(4), 865-882. doi:10.1007/s10342-023-01560-1
- Li, M., Wang, L., Li, S., Hua, C., Gao, H., Ning, D., ... & Jiang, F. (2022). Chemical Composition, Antitumor Properties, and Mechanism of the Essential Oil from *Plagiomnium acutum* T. Kop. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14790. doi:10.3390/ijms232314790
- Linder, C. R., & Rieseberg, L. H. (2004). Reconstructing patterns of reticulate evolution in plants. *American journal of botany*, 91(10), 1700-1708. doi:10.3732/ajb.91.10.1700

- Liu, X., Zhang, L., Li, G., Qin, R., & Liu, H. (2014). Application of nrDNA-ITS sequences in plant phylogeny and evolution. *Botanical Research*, 3(1), 32-40. doi:10.12677/BR.2014.31007
- Liu, Y., Yan, H.-F., Cao, T., & Xuejun, G. (2010). Evaluation of 10 plant barcodes in Bryophyta (Mosses). *Journal of Systematics and Evolution*, 48(1), 36-46. doi:10.1111/J.1759-6831.2009.00063.X
- Mamczarz, H. (1974). Taxonomic relations of *Plagiomnium affine* (Funk.) Kop. and *P. elatum* (BSG) Kop. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 43(1), 3-13. doi:10.5586/asbp.1974.001
- Martínez-Abaigar, J., & Núñez-Olivera, E. (2021). Novel biotechnological substances from bryophytes. In *Natural bioactive compounds*, 233-248. doi:10.1016/B978-0-12-820655-3.00011-2
- McCauley, D. E., Sundby, A. K., Bailey, M. F., & Welch, M. E. (2007). Inheritance of chloroplast DNA is not strictly maternal in *Silene vulgaris* (Caryophyllaceae): evidence from experimental crosses and natural populations. *American Journal of Botany*, 94(8), 1333-1337. doi:10.3732/ajb.94.8.1333
- Merget, B., & Wolf, M. (2010). A molecular phylogeny of Hypnales (Bryophyta) inferred from ITS2 sequence-structure data. *BMC research notes*, 3(1), 320. doi:10.1186/1756-0500-3-320
- Możdżeń, K., Saja, D., Ryś, M., & Skoczowski, A. (2014). Impact of light spectral composition on the length and weight of the gametophyte of *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) GL Smith, *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) TJ Kop. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. *Modern Phytomorphology*, 5, 73-78.
- Munjal, G., Hanmandlu, M., & Srivastava, S. (2019). Phylogenetics Algorithms and Applications. *Springer*, 904, 187-184. doi:10.1007/978-981-13-5934-7_17
- Ochyra, R. (2004). Incorrect records of *Plagiomnium drummondii* in Central Europe. *Journal of Bryology*, 26(3). doi:10.1179/037366804X5341
- Omar, I., Asthana, G., & Asthana, A. K. (2021). *Plagiomnium insigne* (Mitt.) T. J. Kop. (Mniaceae): New to Asian Bryoflora. *National Academy Science Letters-India*, 44(1), 71-74. doi:10.1007/S40009-020-00961-9
- Onder, A., Yıldız, A., Cinar, A. S., Zengin, G., Ak, G., & Ozenoğlu, H. (2022). The comparison of the phytochemical composition, antioxidant and enzyme inhibition activity of two moss species: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. and *Antitrichia californica* Sull., from southwest ecological region in Turkey. *Natural product research*, 36(10), 2660-2665. doi:10.1080/14786419.2021.1916745
- Özdemir, T., & Batan, N. (2016). The bryophyte flora of Ordu province (Turkey). *Arctoa*, 25(1), 144-159. doi:10.15298/arctoa.25.13
- Özdemir, T., & Batan, N. (2017). The bryophyte checklist of Trabzon Province of Turkey. *Arctoa*, 26(1), 58-67. doi:10.15298/arctoa.26.05

- Özen Öztürk, Ö. (2023). Türkiye’de Yayılış Gösteren Bazı Sphagnum L. Taksonlarının Biyosistematiğe Yönden İncelenmesi. K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.
- Pala, Ö. (2019). Türkiye’de yayılış gösteren Cyclamen L.(Primulaceae) cinsine ait taksonların ITS nrDNA dizilerine dayalı filogenetik analizi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Palmer, J. D., Jansen, R. K., Michaels, H. J., Chase, M. W., & Manhart, J. R. (1988). Chloroplast DNA variation and plant phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 1180-1206. doi:10.2307/2399279
- Papp, B., & Sabovljević, M. (2003). Contribution to the bryophyte flora of Turkish Thrace. *Studia botanica hungarica*, 34, 43-54.
- Patiño, J., & Vanderpoorten, A. (2018). Bryophyte biogeography. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37(2-3), 175-209. doi:10.1080/07352689.2018.1482444
- Podsiadło, Ł., & Polz-Dacewicz, M. (2013). Molecular evolution and phylogenetic implications in clinical research. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*, 20(3), 455-459.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256. doi:10.1093/molbev/msn083
- Posada, D., & Crandall, K. A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9), 817-818. doi:10.1093/bioinformatics/14.9.817
- Quandt, D., & Stech, M. (2004). Molecular evolution of the trnTUGU-trnFGAA region in bryophytes. *Plant biology*, 6(05), 545-554. doi:10.1055/s-2004-821144
- Quandt, D., & Stech, M. (2005). Molecular evolution of the trnLUAA intron in bryophytes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 36(3), 429-443. doi:10.1016/j.ympev.2005.03.014
- Ramsay, H. P. (2011). Australian mosses-new chromosome numbers and a compilation of chromosome data. *Telopea*, 13(3), 577-619. doi:10.7751/telopea20116036
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574. doi:10.1093/bioinformatics/btg180
- Rui-Yu Cheng, Juan Li, Deng-Feng Xie, Xing-Jin He, Ren-Xiu Zhou, Qing Li, Yanglina Yu, Song-Dong Zhou, Effects of mountain uplift and climatic oscillations on phylogeography and species divergence of Notholirion (Liliaceae), *Journal of Heredity*, 2025, esaf032. doi:10.1093/jhered/esaf032
- Saha, S. P., Dey, P., & Mitra, S. (2021). Isolation of Micro-Organisms from Phyllosphere of Plagiomnium Rostratum (Schr.) TJ Kop. from Darjeeling Hills. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 91(4), 919-927. doi:10.1007/s40011-021-01300-8

- Sang, T., Crawford, D. J., & Stuessy, T. F. (1995). Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: Implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(15), 6813-6817. doi:10.1073/pnas.92.15.6813
- Sarıçam, S., & Müştak, H. K. (2015). Filogenetik ağaçlandırma metotları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(2), 58-64. doi:10.35864/evmd.513389
- Schofield, W.B. (2024, Aralık 13). Bryophyte.: <https://www.britannica.com/plant/bryophyte> adresinden alınmıştır.
- Semerjyan, G., & Semerjyan, I. (2022). Antioxidant Activity of Extract From Three Species of Mosses: *Plagiomnium cuspidatum*, *Mnium spinosum*, *Anomodon Viticulosus*. *Ajastan Kensabanakan Handes*, 74(4). doi:10.54503/0366-5119-2022.74.4-79
- Sérgio, C., & Garcia, C. (2011). Bryophyte flora of São Tomé e Príncipe archipelago (West Africa): annotated catalogue. *Cryptogamie, Bryologie*, 32(2), 145-196. doi:10.7872/cryb.v32.iss1.2011.145
- Shah, U. N. (2023). Modern Systems of Classification of Bryophytes. *Fundamentals of Algae and Bryophytes*, 83.
- Shaw, A. J. (2000). Molecular phylogeography and cryptic speciation in the mosses, *Mielichhoferia elongata* and *M. mielichhoferiana* (Bryaceae). *Molecular ecology*, 9(5), 595-608. doi:10.1046/j.1365-294x.2000.00907.x
- Shaw, A. J., Cox, C. J., & Boles, S. B. (2005). Phylogeny, species delimitation, and recombination in *Sphagnum* section *Acutifolia*. *Systematic botany*, 30(1), 16-33. doi:10.1600/0363644053661823
- Shaw, A. J., Szövényi, P., & Shaw, B. (2011). Bryophyte diversity and evolution: windows into the early evolution of land plants. *American journal of botany*, 98(3), 352-369. doi:10.3732/ajb.1000316
- Shaw, J. (2001). Biogeographic patterns and cryptic speciation in bryophytes. *Journal of biogeography*, 28(2), 253-261. doi:10.1046/j.1365-2699.2001.00530.x
- Shi, B., Wang, X., Yang, S., Chen, H., & Zhao, Y. (2022). Addition *Pinus massoniana* fallen wood improved the growth of *Plagiomnium acutum* in a substrate cultivation. *Scientific Reports*, 12(1), 17755. doi:10.1038/s41598-022-21901-1
- Singh, R., Joshi, H., & Singh, A. (2020). Bryophytes: natural biomonitors. *In Natural Products Chemistry*, 139-153. doi:10.1201/9781003000693-7
- Slate, M. L., Antoninka, A., Bailey, L., Berdugo, M. B., Callaghan, D. A., Cárdenas, M., ... & Coe, K. K. (2024). Impact of changing climate on bryophyte contributions to terrestrial water, carbon, and nitrogen cycles. *New Phytologist*, 242(6), 2411-2429. doi:10.1111/nph.19772

- Sleator, R. D. (2011). Phylogenetics. *Archives of microbiology*, 193(4), 235-239. doi:10.1007/s00203-011-0677-x
- Smith, A. J. E. (2004). *The moss flora of Britain and Ireland*. Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511541858
- Smith, A. J. E. (2010). *Mosses of Europe: A flora*. Cambridge University Press.
- Sokołowska, J., Fuchs, H., & Celiński, K. (2022). Assessment of ITS2 Region Relevance for Taxa Discrimination and Phylogenetic Inference among Pinaceae. *Plants*, 11(8), 1078. doi:10.3390/plants11081078
- Soltis, D. E., Mavrodiev, E. V., Doyle, J. J., Rauscher, J., & Soltis, P. S. (2008). ITS and ETS sequence data and phylogeny reconstruction in allopolyploids and hybrids. *Systematic Botany*, 33(1), 7-20. doi:10.1600/036364408783887401
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313. doi:10.1093/bioinformatics/btu033
- Stech, M., & Quandt, D. (2010). 20,000 species and five key markers: the status of molecular bryophyte phylogenetics. *Phytotaxa*, 9(1), 196-228. doi:10.11646/phytotaxa.9.1.11
- Stech, M., & Sim-Sim, M. (2006). Molecular variation in *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) TJ Kop. and the status of *P. undulatum* var. *madeirense* TJ Kop. & Sergio. *Journal of Bryology*, 28(1), 63-64. doi:10.1179/174328206X104561
- Sullivan, J., & Swofford, D. L. (2001). Should we use model-based methods for phylogenetic inference when we know that assumptions about among-site rate variation and nucleotide substitution pattern are violated? *Systematic Biology*, 50(5), 723-729. doi:10.1080/106351501753328848
- Swofford, D. L. (2001). *PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods)* (Version 4.0b10) [Computer software]. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Şimşek, Ö. (2024). Liverwort (Marchantiophyta) and Hornwort (Anthocerotophyta) Flora of Yenice District (Çanakkale): New Floristic Findings from the Northern Part of Mount Ida (Kaz Dağı). *Anatolian Bryology*, 10(2), 95-109. doi:10.26672/anatolianbryology.1562063
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., & Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant molecular biology*, 17, 1105-1109. doi:10.1007/BF00037152
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. doi:10.1093/molbev/msab120
- Tan, A. (2010). Türkiye Bitki Genetik Kaynakları ve Muhafazası. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20(1), 9-37.

- Taşcı, N. (2024). Papart Yaylası ve Çevresi (Artvin) Briyofit Florası. K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680. doi:10.1093/nar/22.22.4673
- Unan, A. D., Bay, S., Türe, N., Ören, M. (2024). Rediscovering Harmankaya: A Critical Habitat for Bryophyte Biodiversity in Zonguldak, Türkiye. *Anatolian Bryology*, 10(2), 158-168. doi:10.26672/anatolianbryology.1575338
- Ursavaş, S., Keçeli, T., Uyar, G., & Ören, M. (2021). *Dicranella staphylina* (Dicranaceae), a new moss record from Turkey and South West Asia. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155(3), 483-486. doi:10.1080/11263504.2020.1762778
- Uyar, G., Ören, M., & Alataş, M. (2020). The bryophyte flora of akyazı, arifiye, geyve, karapürçek districts (Sakarya, turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 13(1), 27-43. doi:10.46309/biodicon.2020.731878
- Uygur, A., Ezer, T., Karaman Erkul, S., Alataş, M. (2022). The Bryophyte Flora of Ermenek Valley (Karaman, Mersin-Turkey). *Anatolian Bryology*, 8(1), 37-49. doi:10.26672/anatolianbryology.1063366
- Vanderpoorten, A., & Goffinet, B. (2009). Introduction to bryophytes. Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511626838
- Wang, J. (1999). Application of ITS sequences of nuclear rDNA in phylogenetic and evolutionary studies of angiosperms. *Acta Phytotaxonomica Sinica*.
- Wigh, K. (1972). Cytotaxonomical and modification studies in some Scandinavian mosses. *Lindbergia*, 130-152.
- Won, H., & Renner, S. S. (2005). The chloroplast trnT-trnF region in the seed plant lineage Gnetales. *Journal of Molecular Evolution*, 61, 425-436. doi:10.1007/s00239-004-0240-3
- Wu, Y., Chen, Y., Yi, Y., & Shen, Z. (2009). Responses to copper by the moss *Plagiomnium cuspidatum*: hydrogen peroxide accumulation and the antioxidant defense system. *Chemosphere*, 74(9), 1260-1265. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.10.059
- Wyatt, R. (2021). *Plagiomnium jiuzhaigouense* (Mniaceae), a new moss species from Jiuzhaigou National Park, Sichuan Province, China. *The Bryologist*, 124(1), 27-32. doi:10.1639/0007-2745-124.1.027
- Wyatt, R., & Odrzykoski, I. J. (1992). Isozyme evidence for the allopolyploid origin of *Plagiomnium medium*. *Systematic Botany*, 17(3), 552-561. doi:10.2307/2419725

- Wyatt, R., & Odrzykoski, I. J. (1998). Mniium and Plagiomnium: Polyploidy and evolutionary relationships. *Journal of Bryology*, 20(3), 325–341. doi:10.1179/jbr.1998.20.3.325
- Wyatt, R., & Odrzykoski, I. J. (2012). Plagiomnium floridanum sp. nov.(Mniaceae), a new moss from the southeastern United States. *The Bryologist*, 115(4), 527-535. doi:10.1639/0007-2745-115.4.527
- Wyatt, R., Harris, E. S., & Odrzykoski, I. J. (2021). The pantropical moss Plagiomnium rhynchophorum (Mniaceae) disjunct to the Southern Appalachians and Hawaii. *The Bryologist*, 124(3), 343-351. doi:10.1639/0007-2745-124.3.343
- Wyatt, R., Lane, D. M., & Stoneburner, A. (1991). Chemosystematics of the Mniaceae. II. Flavonoids of Plagiomnium Section Rosulata. *Bryologist*, 443-448. doi:10.2307/3243842
- Wyatt, R., Odrzykoski, I. J., & Stoneburner, A. (1992). Isozyme evidence of reticulate evolution in mosses: Plagiomnium medium is an allopolyploid of P. ellipticum x P. insigne. *Systematic Botany*, 532-550. doi:10.2307/2419725
- Wyatt, R., Odrzykoski, I. J., & Stoneburner, A. (1993). Isozyme evidence regarding the origins of the allopolyploid moss Plagiomnium curvatulum. *Lindbergia*, 49-58.
- Wyatt, R., Odrzykoski, I. J., Stoneburner, A., Bass, H. W., & Galau, G. A. (1988). Allopolyploidy in bryophytes: multiple origins of Plagiomnium medium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(15), 5601-5604. doi:10.1073/pnas.85.15.5601
- Wyatt, R., Stoneburner, A., & Odrzykoski, I. J. (1994). Phylogenetic relationships within Plagiomnium section Rosulata. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 76, 87-95.
- Xiong, J. (2006). *Essential bioinformatics*. Cambridge. Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511806087
- Xuan, Y., Wu, Y., Li, P., Liu, R., Luo, Y., Yuan, J., Xiang Z., & He, N. (2019). Molecular phylogeny of mulberries reconstructed from ITS and two cpDNA sequences. *PeerJ*, 7, e8158. doi:10.7717/peerj.8158
- Yan, M., Xiong, Y., Liu, R., Deng, M., & Song, J. (2018). The application and limitation of universal chloroplast markers in discriminating east Asian evergreen oaks. *Frontiers in plant science*, 9, 569. doi:10.3389/fpls.2018.00569
- Yang, Z., & Rannala, B. (2012). Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature reviews. Genetics*, 13(5), 303–314. doi:10.1038/nrg3186
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Luo, K., Han, J., Li, Y., Pang, X., Xu, H.-X., Zhu, Y., Xiao, P., & Chen, S. (2010). Use of ITS2 Region as the Universal DNA Barcode for Plants and Animals. *Plos One*, 5(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0013102

- Yi, Y.-J., Sun, Z.-W., He, S., & Sulayman, M. (2018). A study of molecular sequences, sexuality, and morphological variation in *Plagiomnium carolinianum*, *P. maximoviczii*, and *P. rhynchophorum* (Bryophyta, Mniaceae). *Phytotaxa*, 375(1), 81–91. doi:10.11646/PHYTOTAXA.375.1.4
- Zhang, J., Chi, X., Zhong, J., Fernie, A., Alseekh, S., Huang, L., & Qian, D. (2022). Extensive nrDNA ITS polymorphism in *Lycium*: Non-concerted evolution and the identification of pseudogenes. *Frontiers in Plant Science*, 13, 984579. doi:10.3389/fpls.2022.984579



ÖZGEÇMİŞ

Ayşenur AYDİN, Lise öğrenimini 2016 yılında Arsin Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2017 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2021 yılında tamamladı. 2022 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda tezli yüksek lisans programına başlamış olup halen devam etmektedir.

