

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

**ORIGANUM L. VE THYMUS L. CİNSLERİNE AİT BAZI TAKSONLARIN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Safnaz ELMASULU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

2010

**ORIGANUM L. VE THYMUS L. CİNSLERİNE AİT BAZI TAKSONLARIN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Safinaz ELMASULU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 2004.03.0121.009 no'lu proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

Ağustos 2010

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

**ORIGANUM L. VE THYMUS L. CİNSLERİNE AİT BAZI TAKSONLARIN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Safnaz ELMASULU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 09/08/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Mehmet KARACA.....
(Danışman)**

Prof. Dr. Kenan TURGUT.....

Prof. Dr. A. Naci ONUS.....

Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL.....

Prof. Dr. Hasan BAYDAR.....

ÖZET

ORIGANUM L. VE THYMUS L. CİNSLERİNE AİT BAZI TAKSONLARIN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Safnaz ELMASULU

Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet KARACA

Ağustos 2010, 136 Sayfa

Bu çalışmada Antalya il sınırları içerisinde doğal olarak yetişmekte olan bazı *Origanum* L. ve *Thymus* L. bitki materyalleri farklı lokasyonlardan toplanmış ve morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Her iki cinse ait toplam genomu ait DNA örnekleri izole edilmiş ve farklı DNA markır teknikleri kullanılarak kloroplast, mitokondri ve nükleer genom bilgilerinden yararlanılarak cinslere ait türler tür, lokasyon ve genotip düzeyinde araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan örnekler bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde, her bir tür için 3 lokasyondan, her bir lokasyondan ise en az üç genotip toplanmıştır. Araştırmada kullanılan toplam genotip sayısı 115 olup 63 adedi *Origanum* L. ve 52 adedi *Thymus* L. cinsine aittir.

Origanum L. örneklerine ait DNA materyali 21 primer çifti kullanılarak SSR veya diğer adıyla mikrosatellit tekniği ve bir primer çifti kullanılarak SCAR tekniği kullanılarak çalışılırken, *Thymus* L. genotipleri CpSSR, CAPS-SSR ("CAPS Microsatellite"), CAPS ve DAMD-PZR teknikleri kullanılarak çalışılmıştır.

Nükleer ve sitoplazmik genom tabanlı SSR ve SCAR markırlarından yararlanılarak *Origanum* L. cinsine ait *O. saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. bilgeri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* türleri UPGMA ve PCO analizleri ile karakterize edilmiştir. Türler arasında belirlenmiş olan genetik ilişkiler morfolojik temelde yapılan taksonomik sıralamayı desteklemektedir.

Çalışmada *Origanum* L. türlerinden *O. saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* türlerine özgü DNA markırları geliştirilmiştir. Bu DNA markırları, tür teşhisinde kullanılabilecek türe özgü SSR markırları olup, ayrıca türler arası gen akışı ve doğal melezlerin tespitinde kullanılabilecek niteliktedirler. Çalışılan her bir türde oldukça yüksek düzeyde varyasyona neden olan genetik heterozigotluk tespit edilmiştir. Aynı türe ait farklı lokasyonlarda veya aynı lokasyonda gözlenen genetik varyasyonun çeşitli seviyelerde görülmesinde coğrafik ve ekolojik faktörlerin de önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Çalışmada ayrıca genotiplerin toplanmış olduğu yatay ve dikey lokasyonlar arasında genetik farklılığın bulunduğu ve bu farklılığın uçucu yağ içerikleri ile ilişkili olabileceği ön denemelerle tespit edilmiştir. Bu bağlamda, bu tez kapsamında elde edilen bulguların sadece *Origanum* L. türlerinin genetik karakterizasyonu ile sınırlı olmadığını, ileride yapılacak ıslah çalışmalarına da ışık tutacak nitelikte olduğunu göstermektedir.

Çalışmanın diğer bölümünde ise, Lamiaceae familyasının en problemli cinslerinden biri olan *Thymus* L. çalışılmıştır. Çalışma materyali olarak Antalya il sınırlarında doğal olarak yetişen *T. cilicicus*, *T. revolotus*, *T. cherlerioides* var. *isauricus*, *T. leucotricus* var. *austroanatolicus*, *T. zygoides* var. *lycaonicus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* ve *T. longicaulis* kullanılmıştır.

DNA analizleri sonucunda, *Thymus* L. tür içi ve türler arasındaki genetik farklılığın yüksek düzeyde olduğu DAMD-PZR analizleri ile ortaya konulmuştur. *Thymus* L. taksonlarının genetik ilişkilerinin ortaya konması amacıyla daha az değişken olan kloroplast ve mitokondri lokusları kullanılmıştır. *Thymus* L. taksonlarının kloroplast ve mitokondri lokuslarında da DNA düzeyinde varyasyonun varlığı gözlenmiş, ancak bu varyasyonun morfolojik gözlemlerle ortaya konulmuş olan taksonomik sıralamaya uymadığı tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen verilere dayanarak *Thymus* L. genotiplerinin bir arada incelendiğinde taksonomik sıkıntının bulunduğu ve bu nedenle ileriki çalışmalarda salt Antalya il sınırları değil bütün

Türkiye genelinden toplanan örneklerin ITS, *MatK* ve mikrosatellit markırları yardımıyla tekrar analiz edilmesi gerektiği öngörülmüştür.

ANAHTAR KELİMELEER: Lamiaceae, *Origanum* L., *Thymus* L., SSR, PZR-RFLP, mitokondri ve kloroplast genomları

Jüri: Doç. Dr. Mehmet KARACA (Danışman)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL

Prof. Dr. Hasan BAYDAR

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME TAXA BELONGING TO GENERA *ORIGANUM* L. AND *THYMUS* L.

Safinaz ELMASULU

Ph. D. Thesis in Field Crops

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mehmet KARACA

August 2010, 136 pages

In this study some *Origanum* L. and *Thymus* L. plant materials naturally grown at different locations within the province of Antalya were collected based on the morphological characteristics and classified. Total genomic DNAs belonging to both genera were isolated and investigated using different DNA techniques to gain knowledge of the species, type, location and genotype level utilizing chloroplast, mitochondrial and nuclear genomes.

Plant leaf materials used in the study were collected from genotypes grown in various different locations. From each location at least three genotypes were collected for each species during the flowering of plants. The total number of genotypes used in the study was 115 in total, consisting of 63 *Origanum* samples and 52 *Thymus* L. samples. 21 SSR primer pairs in a microsatellite technique and utilizing one primer pair in a SCAR technique were used for genetic studies of *Origanum* L. while CpSSR, CAPS-SSR ("CAPS Microsatellite"), CAPS and DAMD-PCR techniques were used for *Thymus* L. genetic studies.

UPGMA and PCO analyses were utilized using the SSR and SCAR markers obtained from nuclear and cytoplasmic genomes for characterization of *Origanum* L. genus *O. saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* species. The genetic relationships between among the species and genotypes based on the DNA markers agreed with the morphological based taxonomic ranking.

In this study species-specific DNA markers were developed specific to *O. saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites*,

O. vulgare subsp. *hirtum* which belong to *Origanum* L. genus. These DNA markers developed in this study are SSR markers which are well qualified to be used in the determination of gene flow between species and natural hybrids. Studies revealed that species in *Origanum* genus have high level of genetic variations and most of them are genetically heterozygous. Further studies also showed that there were great genetic differences among the species grown in different locations indicating the effects of geographic and ecological factors on genetic variations. Genetic differences among the plant genotypes which were collected at horizontal and vertical locations could be related with the essential oil contents. Thus researchers or plant breeders could obtain genotypes with high essential oil contents using the genetic markers identified in this study. In the other part of this study, *Thymus* L. which is the genus of the most problematic and complicated member of the Lamiaceae family was studied. In the study *T. cilicicus*, *T. revolotus*, *T. cherlerioides* var. *isauricus*, *T. leucotricus* var. *austroanatolicus*, *T. zygoides* var. *lycaonicus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* and *T. longicaulis* naturally grown in the Antalya province were studied. In the result of this study, it was observed that the genus *Thymus* L. has high level of genetic variations at both in intra and inter species level based on the DAMD-PCR analysis.

Analyses of chloroplast and mitochondria loci of *Thymus* L. revealed there were high level of variations in DNA, however, cluster analyses based on the loci could not support the morphological relations based on the morphological observations. Based on the data obtained from this study it was concluded that genotypes in *Thymus* L. might have some kind of contaminations in terms of genotypic mixture and therefore further studies are required to reanalyzed the genotypes of *Thymus* L. with additional samples collected from more locations. The use of new markers and DNA sequencing analyses such as ITS, *Mat K* and microsatellite could be useful in these types of analyses.

KEY WORDS: Lamiaceae, SSR, PZR-RFLP, mitochondri and chloroplast genomes

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Mehmet KARACA (Supervisor)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL

Prof. Dr. Hasan BAYDAR

ÖNSÖZ

Türkiye’de bulunan tıbbi ve aromatik bitkilerin büyük bir kısmı doğal olarak yetişmekte ve son yıllarda artan bir oranda kültüre alınmaktadır. Ancak tıbbi ve aromatik bitkiler diğer kültür bitkilerine kıyasla tarımı çok dar alanlarda kalmaktadır. Gerek ekonomi ve gerekse insan sağlığı açısından düşünüldüğünde tıbbi ve aromatik bitkilerin önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerdeki etkili maddelerin, sentetik yolla elde edilenlere nazaran, çok yönlü etkiye sahip olması tıbbi ve aromatik bitkilerin önemini daha da artırmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin bitkilerin ilaç sanayinde kullanımı yanında, meşrubat, parfüm ve kozmetik endüstrisi gibi alanlarda da kullanılması, ayrıca son yıllarda insanların sentetikler yerine doğal ürünlere yönelmesi tüketimi hızlandırmış, buna bağlı olarak da üretim zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır.

Bu çalışmada Antalya il sınırları içerisinde doğal olarak bulunan iki cinse (*Origanum* L. ve *Thymus* L.) ait bazı taksonlara ait örnekler doğal yayılış alanlarından toplanılarak *Origanum* L. taksonları arasındaki genetik ilişkiler türler arası ("inter-") ve türler içi ("intra-") düzeyde belirlenmiştir. Diğer taraftan *Thymus* L. taksonları arasındaki genetik ilişkiler morfolojik gözlemlerden oldukça farklı olduğu tespit edilmiş olup *Thymus* L. taksonları arasındaki ilişkilerin gerek gruplama ("Cluster") ve gerekse de filogeni ("Molecular Phylogeny") açısından yeniden değerlendirilmesi gerektiği ortaya konmuştur.

Yaklaşık 9.000’ den fazla çiçekli bitki türü Türkiye’ de doğal olarak yetişmektedir ve bunların önemli bir oranı (%30’u) endemiktir. Dünya genelindeki tıbbi ve aromatik bitkilerin sadece %30’u ilaç sanayisinde kullanılmakta olup bu oran mevcut potansiyelin sadece %10’nu karşılamaktadır. Bu bağlamda tıbbi ve aromatik bitkiler üzerinde yeni çalışmaların yapılmasının önemi ortaya çıkmaktadır. Tez kapsamında sadece Antalya ili sınırları içerisinde bulunan iki cins DNA düzeyinde çalışılmış olup; bu tür çalışmaların ülkemizin diğer tıbbi ve aromatik bitkileri üzerinde yapılacak daha kapsamlı çalışmalara materyal toplama, değerlendirme ve uygulanan yöntemler açısından katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasının yönlendirilip yürütülmesinde sürekli yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Sayın danışman Hocam Doç. Dr. Mehmet KARACA'ya (Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü), tez izleme komitesinde yer alarak çalışma süresince bilimsel desteğini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Kenan TURGUT'a (Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü), Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a (Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü), taksonların teşhisinde ve tez jürisinde yer alarak değerli katkılarda bulunan Sayın Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL'e (Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) ve yine tez jürisinde yer alarak önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Hasan BAYDAR'a (Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü) teşekkür ederim. Doktora çalışmamın başladığı günden itibaren manevi desteğini hep yanımda hissettiğim Doç. Dr. Mehmet BİLGİN'e, yapmış olduğu yardımlardan dolayı Dr. Saadet TUĞRUL AY'a teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında emeğini ve bilgisini benimle paylaşan sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Ahu ÇINAR, Yrd. Doç. Dr. İsmail Gökhan DENİZ'e , Dr. Ayşe Gül İNCE'ye, Dr. Yaşar ÖZYİĞİT'e teşekkür ederim. Bu çalışmayı proje bazında destekleyen Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve laboratuvar imkanlarından yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne. teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak; bu tez çalışmasına, yarattığım tüm zorluklara rağmen sabır ve anlayışıyla maddi, manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. Hasan Salih ELMASULU'ya, sevgili Annem Esma GÜLMEZ'e ve sevgili ELMASULU ve YAŞAK ailelerinin tüm bireylerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	6
2.1. <i>Origanum</i> L.	6
2.2. <i>Thymus</i> L.	8
2.3. Taksonomide Yaygın Olarak Kullanılan Karakterler ve Markırlar	8
2.3.1. Morfolojik karakterler	9
2.3.2. Anatomik karakterler.....	12
2.3.3. Palinolojik ve embriyolojik karakterler.....	12
2.3.4. Sitolojik karakterler	13
2.3.5. Fitokimyasal karakterler.....	13
2.3.6. Biyokimyasal markırlar	16
2.3.7. Moleküler markırlar	17
3. MATERYAL ve METOT	29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Metot	33
3.2.1. Taksonların teşhisi.....	33
3.2.2. DNA ekstraksiyonu	33
3.2.2.1. DNA çalışmalarında kullanılan çözeltiler	33
3.2.2.2. DNA izolasyonu protokolü.....	35
3.2.3. DNA kalitesinin ve miktarının belirlenmesi	38
3.3. PZR Tabanlı DNA Analizleri.....	39
3.4. Veri Analizleri	45
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	46
4.1. DNA İzolasyonu.....	46
4.2. DNA Markır Analizleri	47
4.3. <i>Origanum</i> L. DNA Markır Analizleri	48

4.4. <i>Origanum</i> L. Türlerinin Genetik İlişkileri.....	51
4.5. <i>Thymus</i> L. DNA Markır Analizleri	67
4.5. <i>Thymus</i> L Türlerinin Genetik İlişkileri.....	75
5. SONUÇ	80
6. KAYNAKLAR	83
7. EKLER.....	99
ÖZGEÇMİŞ	



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolarite
AFLP	"Amplified Fragment Length Polymorphism"
bç (bp)	Baz çifti "Base pair"
CAPS	"Cleaved Amplified Polymorphic Sequence"
CAS	"Chemical Abstracts Service"
CCMP	"Cotton Cytoplasmic Microsatellite Primer"
CIA	"Chloroform-isoamyl alcohol"
CpSSRLP	"Chloroplast-Specific Simple Sequence Repeat Length Polymorphism"
CTAB	"Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide "
DAMD	"Directed Amplification of Minisatellite DNA"
ddH ₂ O	Çift Distile Su
dk	Dakika
DNA	"Deoksiribonucleicacid" (Deoksi Ribonükleik Asit)
DNaz	Deoksiribonükleaz
EST	"Expressed Sequence Tag"
g	Gram
GPS	"Global Positioning System" (Küresel Konumlama Sistemi)
h/h (v/v)	Hacim / Hacim (Volume / Volume)
ISSR	"Inter-Simple SequenceRepeat"
ITS	"Internal Transcribed Spacers"
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
l	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolarite
MVSP	"MultiVariate Statistical Package"

MW(MA)	Moleküler Ağırlık
N	Normalite
ng	Nanogram
NJ	"Neighbor-Joining Method"
nm	Nanometre
OR	<i>Origanum</i>
PCO	"Principal Coordinate Analysis"
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	"Potentia Hydrogeny"
PVPP	"Polyvinylpolypyrrolidone"
RAPD	"Random Amplified Polymorphic DNA"
<i>rbcL</i>	"the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase"
RE	"Restriction Enzyme"
RFLP	"Restriction Fragment Length Polymorphism"
RNA	"Ribonucleic Acid", Ribonükleik Asit
RNaz	Ribonükleaz
RPM	"Round per minute" (dakikada dönüş sayısı)
rRNA	Ribozomal RNA
°C	Santigrad derece
SCAR	"Sequence Characterized Amplified Region"
sp.	"Species"
SSR	"Simple Sequence Repeat"
subsp.	"Subspecies"
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
UPGMA	"Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean"
V	Volt
var.	Varyete
VNTR	"Variable Number Tandem Repeats"
w/v	Ağırlık/Hacim (Weight/Volume)
w/w	Ağırlık/Ağırlık (Weight/Weight)
xg	"gravity"

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	P.H. Davis'in Türkiye'de bulunan bitki taksonlarının coğrafi dağılımı için yaptığı kareleme sistemi.....	30
Şekil 3.2.	Bitki doku örneklerinin (yaprak) sıvı azot yardımı ile ezilmesinin aşamaları.....	36
Şekil 3.3.	DNA ekstraksiyonuna ait bazı fotoğraflar	38
Şekil 4.1.	Bazı <i>Origanum</i> SSR primer çiftleri ile türlerin amplifikasyonu sonucu elde edilen bant profilleri	50
Şekil 4.2.	Bazı <i>Origanum</i> SSR primer çiftleri ile lokasyonların amplifikasyonu sonucu elde edilen bant profilleri	50
Şekil 4.3.	Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> türlerine ait bazı fotoğraflar	54
Şekil 4.4.	<i>Origanum</i> taksonlarının Nei & Li benzerlik matrisi temel alınarak oluşturulmuş UPGMA ağacı	55
Şekil 4.5.	<i>Origanum</i> cinsine ait üç boyutlu PCO analiz grafiği	61
Şekil 4.6.	Kloroplast SSR (CpSSR) primer çiftleri ile elde edilen amplikonların agaroz jel görüntüleri	68
Şekil 4.7.	CCMP2 (CpSSR) primer çifti ile enzim setlerinin kullanılması sonucu elde edilen amplikonların agaroz jel görüntüsü	69
Şekil 4.8.	<i>Thymus</i> L.'ye ait DNA örneklerinin CCMP2 primer çifti ile çoğaltılması sonucu elde edilen amplikonlar	69
Şekil 4.9.	ucpd-c ve cpTrnS-psbC primerleri ile <i>Thymus</i> L.'nin 52 genotip DNA'sı çoğaltılarak elde edilen amplikonlar	70
Şekil 4.10.	CAPS-SET-A restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri	71
Şekil 4.11.	CAPS-SET-B restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri	72
Şekil 4.12.	CAPS-SET-C restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri	73
Şekil 4.13.	DAMD-PZR'ın <i>Thymus</i> L. genotiplerine ait DNA'ların çoğaltılması sonucu elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jel elektroforesis görüntüleri	73
Şekil 4.15.	Çalışmada kullanılan <i>Thymus</i> türlerine ait bazı fotoğraflar	75
Şekil 4.16.	<i>Thymus</i> taksonlarının Nei & Li benzerlik matrisi temel alınarak oluşturulmuş UPGMA ağacı	78
Şekil 4.17.	<i>Thymus</i> L. taksonlarına ait PCO grafiği	78
Şekil Ek-1.	<i>Origanum saccatum</i> türünün genel görünümü.....	101
Şekil Ek-2.	<i>Origanum saccatum</i> türünün örneklediği lokasyonlar	102
Şekil Ek-3.	<i>Origanum saccatum</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	102

Şekil Ek-4. <i>Origanum solymicum</i> türünün genel görünümü.....	103
Şekil Ek-5. <i>Origanum solymicum</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	104
Şekil Ek-6. <i>Origanum solymicum</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	104
Şekil Ek-7. <i>Origanum husnucanbaseri</i> türünün genel görünümü.....	105
Şekil Ek-8. <i>Origanum husnucanbaseri</i> türünün örneklendiği lokasyon	106
Şekil Ek-9. <i>Origanum husnucanbaseri</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	106
Şekil Ek-10. <i>Origanum bilgeri</i> türünün genel görünümü	107
Şekil Ek-11. <i>Origanum bilgeri</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	108
Şekil Ek-12. <i>Origanum bilgeri</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	108
Şekil Ek-13. <i>Origanum minutiflorum</i> türünün genel görünümü	110
Şekil Ek-14. <i>Origanum minutiflorum</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	110
Şekil Ek-15. <i>Origanum minutiflorum</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm.....	110
Şekil Ek-16. <i>Origanum majorana</i> türünün genel görünümü	111
Şekil Ek-17. <i>Origanum majorana</i> türünün örneklendiği lokasyonlar.....	112
Şekil Ek-18. <i>Origanum majorana</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	112
Şekil Ek-19. <i>Origanum onites</i> türünün genel görünümü	113
Şekil Ek-20. <i>Origanum onites</i> türünün örneklendiği lokasyonlar.....	114
Şekil Ek-21. <i>Origanum onites</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	114
Şekil Ek-22. <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> türünün genel görünümü.....	115
Şekil Ek-23. <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	116
Şekil Ek-24. <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm....	116
Şekil Ek-25. <i>Thymus cilicicus</i> türünün genel görünümü.....	118
Şekil Ek-26. <i>Thymus cilicicus</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	119
Şekil Ek-27. <i>Thymus cilicicus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	119
Şekil Ek-28. <i>Thymus revolutus</i> türünün genel görünümü	120
Şekil Ek-29. <i>Thymus revolutus</i> türünün örneklendiği lokasyonlar	121
Şekil Ek-30. <i>Thymus revolutus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm.....	121
Şekil Ek-31. <i>Thymus cherlerioides</i> var. <i>isauricus</i> türünün genel görünümü	122
Şekil Ek-32. <i>Thymus cherlerioides</i> var. <i>isauricus</i> türünün örneklendiği lokasyon	123
Şekil Ek-33. <i>Thymus cherlerioides</i> var. <i>isauricus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	123
Şekil Ek-34. <i>Thymus leucotrichus</i> var. <i>austroanatolicus</i> türünün genel görünümü	124
Şekil Ek-35. <i>Thymus leucotrichus</i> var. <i>austroanatolicus</i> türünün örneklendiği lokasyon	125

Şekil Ek-36. <i>Thymus leucotrichus</i> var. <i>austroanatolicus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	125
Şekil Ek-37. <i>Thymus zygoides</i> var. <i>lycaonicus</i> türünün genel görünümü.....	126
Şekil Ek-38. <i>Thymus zygoides</i> var. <i>lycaonicus</i> türünün örneklediği lokasyonlar	127
Şekil Ek-39. <i>Thymus zygoides</i> var. <i>lycaonicus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm...	127
Şekil Ek-40. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	128
Şekil Ek-41. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> türünün örneklediği lokasyonlar	129
Şekil Ek-42. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> türünün genel görünümü .	129
Şekil Ek-43. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>davisianus</i> türünün genel görünümü	130
Şekil Ek-44. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>davisianus</i> türünün örneklediği lokasyon	131
Şekil Ek-45. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>davisianus</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm.....	131
Şekil Ek-46. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>rosulans</i> türünün genel görünümü	132
Şekil Ek-47. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>rosulans</i> türünün örneklediği lokasyon	133
Şekil Ek-48. <i>Thymus sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>rosulans</i> türünün çiçeğine ait genel görünüm	133
Şekil Ek-49. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> türünün genel görünümü	135
Şekil Ek-50. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> türünün örneklediği lokasyonlar	136
Şekil Ek-51. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> türünün çiçeğine ve sürünücü dalına ait genel görünüm.....	136

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>Origanum</i> L. ve <i>Thymus</i> L. cinslerinin sistematikteki yeri	3
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> L. taksonlarına ait lokasyon ve GPS değerleri.....	31
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan <i>Thymus</i> L. taksonlarına ait lokasyon ve GPS değerleri.....	32
Çizelge 3.3. SSR PZR bileşenleri (Bioron)	40
Çizelge 3.4. SSR PZR bileşenleri (Vivantis).....	40
Çizelge 3.5. DAMD-PZR bileşenleri	40
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan <i>Origanum</i> EST-SSR primer çiftleri.....	41
Çizelge 3.7. <i>Thymus</i> L.'de kullanılan kloroplast (CpSSRLP) genomu özgü primer çiftleri	42
Çizelge 3.8. <i>Thymus</i> L.'de kullanılan SCAR/CAPS primer çiftleri	42
Çizelge 3.9. <i>Thymus</i> L.'de kullanılan DAMD-PZR primerler	43
Çizelge 3.10. PZR cihazında kullanılan SSR, SCAR, CpSSR, SCAR ve CAPS programı I.....	43
Çizelge 3.11. PZR cihazında kullanılan SSR, SCAR, CpSSR, SCAR ve CAPS programı II	44
Çizelge 3.12. PZR cihazında kullanılan DAMD-PZR programı	44
Çizelge 4.1. <i>Origanum</i> türlerinin toplandığı lokasyonlar, lokasyon numaraları, tür numaraları ve türlerin ait olduğu seksiyonlar.....	49
Çizelge 4.2. <i>Origanum</i> türleri için belirlenen DNA markırları	49
Çizelge 4.3. <i>Origanum</i> L. türler arası genetik benzerlik indeksi.....	52
Çizelge 4.4. <i>Origanum</i> L. tür içi ilişki genetik benzerlik indeksi	52
Çizelge 4.5. <i>Origanum</i> L. genotiplerine ait genetik benzerlik indeksleri	56
Çizelge 4.6. Kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma bölgelerinin sekans bilgileri.	70
Çizelge 4.7. Hazırlanan restriksiyon enzim karışımları	71
Çizelge 4.8. <i>Thymus</i> L. taksonlarına ait benzerlik indeksi	79

1. GİRİŞ

Günümüze değin Dünya genelinde 250.000 çiçekli bitki türü tanımlanmıştır. Ancak bu rakamın gelecekte yapılacak araştırmalarla 500.000'e ulaşabileceği tahmin edilmektedir. Bugün Dünya üzerinde bulunan bitkilerden yaklaşık 20.000 türün tıbbi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Bu bağlamda Dünya florasının önemli bir parçası olan tıbbi ve aromatik bitkiler geniş bir biçimde farklı floristik bölgelere dağılmış olup 35.000–70.000 türün çeşitli kültür ve coğrafik bölgelerde tıbbi ve aromatik amaçlı kullanıldığı tahmin edilmektedir (Baytop 1999, Arslan vd 2001).

Ülkelerin biyolojik zenginliği doğal olarak sahip olduğu tür çeşitliliği ile doğrudan orantılıdır. Biyolojik çeşitlilik bir bölgedeki türlerin, ekosistemlerin ve ekolojik olayların oluşturduğu bir bütün olup farklı gen havuzlarından oluşur. Anadolu canlı türlerin ve genetik özelliklerin çeşitliliği bakımından “tabiat müzesi” olarak nitelenecek kadar zengin biyolojik varlıklara sahiptir. Bunun başlıca iki nedeni bulunmaktadır. Bunlardan biri, Anadolu'nun coğrafi konumu nedeniyle üç farklı kıta (Avrupa, Asya, Afrika) arasında bir geçiş bölgesinde yer almasıdır. İkinci neden ise, çok kısa mesafeler içinde ekstrem derecede farklı yeryüzü şekillerine ve buna bağlı olarak da değişik lokal iklimlere (eko-sistemlere) sahip bulunmasıdır (Çepel 1997).

Türkiye'de bulunan tıbbi bitkilerin büyük bir kısmı doğal olarak yetişmekte olup çok az kısmı kültüre alınmıştır. Üretimleri de diğer kültür bitkilerine kıyasla çok dar alanlarda kalmaktadır. Gerek ekonomik açıdan gerekse de insan sağlığı açısından düşünüldüğünde tıbbi bitkilerin önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Tıbbi bitkilerdeki etkili maddelerin sentetik yolla elde edilenlere nazaran etkisinin çok yönlü olması, tıbbi ve aromatik bitkilerin ilaç sanayi yanında, meşrubat, parfüm ve kozmetik endüstrisi gibi alanlarda da kullanılması, ayrıca insanların sentetikler yerine doğal ürünlere yönelmesi tüketimi hızlandırmış, buna bağlı olarak da üretim zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır.

Türkiye, aromatik bitkiler arasında yer alan Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası için önemli bir gen merkezidir. Dünyada yaklaşık 220 cinse sahip olan bu familya,

Türkiye’de toplam 45 cins ile temsil edilmektedir (Başer 1994). Özellikle Akdeniz bölgesinde yaygın durumda olan *Origanum* L., *Thymbra* L., *Satureja* L. ve *Thymus* L. cinslerinin ortak özelliği yüksek miktarda uçucu (eterik=esansiyel) yağ içermeleridir. Bu cinslere ait uçucu yağ içerikleri incelendiğinde en önemli maddelerin; timol, timol metil eter, karvakrol, sineol, simol ve linalool olduğu tespit edilmiştir. İçerdikleri bu maddelerden dolayı sinir sistemi ve dolaşım sistemi bozukluklarında ve idrar söktürücü, dezenfektan, antiseptik vb etkileri nedeniyle de çok eski çağlarda olduğu gibi günümüzde de hala kullanılmaktadır (Messegue 1998). Ülkemizde "Kekik", *Thymus* L. cinsine giren bitkilere verilen genel bir isim olmasına rağmen diğer cinslere (*Origanum* L., *Thymbra* L., *Satureja* L.) ait türler de halk arasında “kekik” olarak adlandırılmaktadır (Arslan vd 2002, Baydar 2005).

Lamiaceae familyasına ait *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerinin ülkemizdeki dağılımı incelendiğinde, bu bitkilerin önemi açık bir biçimde ortaya çıkmaktadır. *Origanum* L ve *Thymus* L. cinslerine ait taksonların çeşitliliği bakımından ülkemiz oldukça zengindir. Dünya üzerinde 10 ayrı bölüm (seksiyon) içerisinde 51 taksonu (44 tür ,5 alt tür ve 2 varyete) bulunan *Origanum* L. cinsinin ülkemizde 26 taksonu (23 tür, 3 alt tür) bulunmakta, 13’ü Dünya genelinde sadece ülkemiz sınırları içinde yer almaktadır. Diğer bir deyişle, Dünya’da bilinen 51 *Origanum* L taksonunun %50’si Türkiye’de yayılış göstermektedir. Bu da, ülkemizin *Origanum* L. türlerinin gen merkezlerinden biri olduğuna ilişkin güçlü bir kanıttır (Ietswaart 1982, Davis 1988, Güner vd 2000).

Thymus L. cinsinin Dünya üzerinde 250 taksonu (214 tür ve 36 alt tür) bulunmaktadır. Türkiye florasında 37 tür ve 55 taksonla (tür, alt tür, varyete) temsil edilen *Thymus* L. cinsi (Jalas 1982, Davis 1988, Güner vd 2000), Yıldız vd (2004) tarafından yapılmış olan revizyon çalışması sonucunda 38 tür, 55 takson olarak değerlendirilmiştir. Türkiye florasında bulunmayan iki tür, *T. syriacus* Boiss. ve *T. ararati-minoris* Klokov & Shost. eklenmiştir. Türkiye florasında yer alan iki takson, *T. sibthorpii* Bentham ve *T. thracicus* Velen. var. *longidens* (Velen) Jalas’ın ülkemizde bulunmadığına karar verilmiş ve ülkemizde yetişen türlerin, tür üstü sınıflandırılması düzenlenerek, 4 seksiyon ve 7 alt

seksiyona ayrılmıştır. Türkiye’de bulunan *Thymus* L. cinsine ait türlerden 27’si Dünya’da sadece ülkemiz sınırları içinde yer almaktadır. Geniş ölçüde eski Dünya’da yayılış gösteren *Thymus* L. cinsi için özellikle batı Akdeniz bölgesi gen merkezi olarak kabul edilmektedir (Jalas 1982, Davis 1988, Güner vd 2000). Çizelge 1.1’de *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerinin sistematikteki yeri verilmiştir (Davis 1988).

Çizelge 1.1. *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerinin sistematikteki yeri

Türkçe	Latince	Taksonomik Sıralama
Bitkiler	<i>Plantae</i>	Alem ("Regnum")
Tohumlu Bitkiler	<i>Spermatophyta</i>	Bölüm ("Divisio")
Kapalı Tohumlular	<i>Angiospermae</i>	Altbölüm ("Subdivisio")
Çift Çenekliler	<i>Dicotyledoneae</i>	Sınıf ("Classis")
<i>Asteridae</i>	<i>Asteridae</i>	Altsınıf ("Subclass")
<i>Lamiales</i>	<i>Lamiales</i>	Takım ("Ordo")
Ballıbabagiller	<i>Lamiaceae</i>	Familya ("Family")
Nepetoideae	<i>Nepetoideae</i>	Altfamilya ("Subfamily")
Kekik	<i>Origanum</i> L., <i>Thymus</i> L.	Cins ("Genus")

Son yıllarda, özellikle de son yirmi yılda, Dünya genelinde tıbbi ve aromatik bitkilerin ilaç sanayisi için kullanımında büyük artış görülmektedir (Hoareau ve Dasilva 1999). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 20.000 civarında bitkinin tıbbi amaçlarla kullanıldığını saptamıştır. Dört bin bitkisel drog yoğun olarak kullanılırken 400 kadar drogun da ticareti yapılmaktadır (Başer 1998). Ancak yeryüzünde 350.000 civarında olduğu tahmin edilen bitki türlerinin hala büyük bir bölümü fitokimyasal ve farmakolojik potansiyelleri yönünden araştırılmamıştır (Hostettmann ve Marston 2002).

Ülkemiz öteden beri tıbbi ve aromatik bitkileri ihraç eden önemli ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye’den ihraç edilen kekiğin tahminen %90 gibi çok büyük bir bölümü *Origanum* L. cinsine giren *O. onites* (İzmir kekiği), *O. vulgare ssp. hirtum* (İstanbul kekiği veya diğer bir ismi kara kekik), *O. minutiflorum* (Sütçüler kekiği), *O. majorana* (Beyaz kekik veya Alanya kekiği) ve *O. syriacum var. bevanii* (Suriye kekiği) türlerinden elde edilmektedir. Bu *Origanum* türleri içerisinde büyük paya (tahminen %80) *O. onites* sahiptir (Başer 2002).

Kekiğin ulusal ekonomiye olan katkısı ve yöre halkına sağladığı ek gelir yadsınamaz. Ülkemiz sahip olduğu mikro klima zenginliği ile pek çok tıbbi ve aromatik bitkinin

yetiştirilmesine elverişlidir. Yapılması gereken, ilk aşamada ihraç edilebilir veya yerli sanayimizde kullanılabilir bitkilerin saptanması ve ıslah edilerek üretilmesidir. Daha sonraki safhada, ham drogların ihracatının artırılması yanında işlenmiş kaliteli drog üretimi gerçekleştirilmelidir (Sarı ve Oğuz 2002). Ancak ülkemizin bu bitkiler açısından sahip olduğu potansiyel değerlendirildiğinde, sorunların çözümüne yönelik olarak yürütülmüş olan ıslah ve agronomi ağırlıklı çalışmaların yeterli olmadığı görülmektedir.

Agronomi ve ıslah çalışmalarında temel amaç, yetiştirme tekniğine yönelik problemi çözerken verim ve kaliteyi de yükseltmektir. Ele alınacak agronomi ve ıslah çalışmalarıyla, bitkilerin kullanılan kısımlarının verimini artırmanın yanında bu kısımlardaki etkili madde miktarının da artırılması hedeflenmektedir. Ancak etkili madde miktarının kalitesi de ayrı bir önem taşımaktadır. Bu nedenle yüksek verimli türlerin bulunmasında ve geliştirilmesinde nicelikten çok nitelik üzerinde durulması gerekmektedir. Günümüzde etkili maddelerin kullanımındaki en önemli sorun, genetik heterojenlikten kaynaklanan değişkenliklerdir. Bu heterojenlik ise çoğunlukla doğal tozlanma ve dölleme kaynaklanmaktadır. Bu nedenle etkili madde içerikleri bitkiden bitkiye önemli varyasyon gösterebilmektedir (Franz ve Novak 2002, Makri 2002).

Fenotipik özelliklere göre yapılan morfolojik-agronomik gruplamalar çevreden etkilenen ve sayıca da az olan karaktere dayandığından dolayı, gerçekte uzak ilişkili iki grup oldukça yakın akraba olarak görülebilmektedir. Ayrıca bu karakterler birbirine oldukça yakın genotipler arasında sınırlı sayıda polimorfizm göstermektedir (Cloutier ve Landry 1993, Şençiçek 2000). Bireyler veya populasyonlar arasındaki varyasyon biyokimyasal parametrelere (izoenzim analizi ve tohum depo proteinleri) dayandırılarak da belirlenebilmektedir. Ancak, biyokimyasal parametrelerden olan enzim markırları pratik ve bilgi verici olmasına rağmen polimorfizm dereceleri DNA markırlarına göre düşük olması yanı sıra enzim izolasyonu için taze bitki kaynağı gerektirmesi gibi nedenlerden dolayı kullanımı sınırlıdır (Ince vd 2008, Karaca vd 2008).

Geçtiğimiz yüzyılın sonlarına doğru geliştirilmiş olan moleküler biyoloji teknikleri, özellikle de moleküler markır (belirteç) yöntemleri, türe özel markırların belirlenmesi

ve bu türe özel markırların bitkiler arasındaki genetik ilişkilerin saptanması ve taksonomisinde kullanılma olanaklarını sağlamıştır (Aydın 2004). Bu yöntemler klasik yöntemlere göre büyük avantajlar sağlamaktadır. Morfolojik ve biyokimyasal markırların uygulamadaki yetersizlikleri moleküler markırların kullanılmasıyla ortadan kalkmıştır. Moleküler teknikler, diğer tekniklere göre daha fazla avantajlara sahip olup, çevre faktörlerinden etkilenmezler ve polimorfizm oranları yüksektir. Aynı zamanda pleiotropik (bir genin birden fazla fenotipik karakter üzerindeki etkisi) ve epistatik (bir karakterin ortaya çıkmasından sorumlu olan farklı genler arasında baskılayıcı etkilerin olması durumu) etki göstermeyip son derece stabildirler (Soller ve Beckmann 1983, Tanksley 1983, Bretting ve Widrlechner 1995, Javornik 2002, Karaca ve Ince 2008, Ince vd 2009).

Günümüze değin çok sayıda DNA markır tekniğı geliştirilmiş olmakla birlikte bunlardan hangisinin kullanılacağı birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörlerin başında basitliği, doğruluğı ve tekrarlanabilirliği gelmektedir. Mikrosatellit teknolojisi tekrarlanabilirlik ve basitlik açısından en önde gelen markır sistemi olmakla birlikte üzerinde çalışılan genoma özgü primerler gerektirmektedir. Ancak *Origanum* L. türlerinde kullanılan mikrosatellit primerleri mevcut olup bu çalışmada kullanılmıştır. DAMD-PZR ve PZR-RFLP markır sistemleri genoma özgü primerler gerektirmediğı için çalışma kapsamında kullanılmıştır.

Bu çalışmada Antalya il sınırları içersinde doğal olarak yetişmekte olan 8 *Origanum* L. ve 9 *Thymus* L. taksonu toplanmış ve morfolojik özelliklerine göre betimlenmiştir. Betimlemeleri yapılmış taksonlara ait kloroplast, mitokondri ve nüklear genom bilgilerinden yararlanılarak genetik ilişkileri saptanmıştır. Çalışmada kullanılan bitki materyallerinin toplanmasında her bir lokasyondan en az üç genotip toplanmış olup bitkiler arasındaki genetik ilişkiler genotip, lokasyon ve tür düzeyinde belirlenmiştir. Çalışmada ileriki araştırmalara ışık tutacak bulgular arasında *Origanum* L. cinsine giren bazı türlerin teşhisinde kullanılabilecek DNA markırları belirlenmiştir. Ayrıca *Thymus* L. cinsine giren bazı taksonların taksonomik açıdan sorunlu olduğu saptanmış ve daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğı tespit edilmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Kozmopolitan olan ballıbabagiller familyasında yaklaşık 220 cins ve 4000'den fazla tür bulunmaktadır (Kaufman ve Wink 1994). Bu familya üyeleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayinde önemlidir. Eterik yağ ve baharat olarak kullanıldığı gibi süs bitkisi olarak da yetiştirildiği bilinmektedir (Seçmen vd 1995). Ülkemizde bu familyaya ait 45 cins ve 546 tür ve 731 takson bulunmaktadır (Başer 1993). Lamiaceae familyasının yaklaşık 220 cinsten oluşan toplam 4000'den fazla tür bulunmakla birlikte sınıflandırılmasının sorunu olduğu bilinmektedir (Kaufman ve Wink 1994).

2.1. *Origanum* L.

Origanum L. cinsine ait 49 türden 46'sı Akdeniz havzasındaki dar alanlarda oldukça sınırlı yayılış göstermektedir. Bu türlerden üçünün yayılışı Fas ve Güney İspanya ile ikisinin yayılışı ise Cezayir ve Tunus ile sınırlıdır. Üç tür Libya'ya endemiktir, dokuzunun yayılışı Yunanistan, Güney Balkanlar ve Anadolu ile sınırlıdır (altısı Yunanistan'da lokal olarak yayılış göstermektedir). 21 tür Türkiye, Kıbrıs, Suriye, Lübnan da yayılış göstermektedir. Son olarak sekizi İsrail, Ürdün ve Sina yarımadasında lokal olarak yayılış göstermektedir (Kokkini 1997). *Origanum* cinsine ait türler 10 seksiyon altında toplanmıştır. Bu seksiyonlar aşağıda belirtilmiştir.

I. *Amaracus* (Gleditsch) Benthams seksiyonu: Bu seksiyonda tümü Akdeniz bölgesinin doğusunda yayılış gösteren 7 tür bulunmaktadır. Bu türler genellikle mor pulsu yapraklı (bract), 1 veya 2 dudaklı dişsiz kaliks ve keseli (saccate) korollaya sahiptir.

II. *Anatolicon* Benthams seksiyonu: Bu seksiyona ait 8 tür bulunmaktadır. Yunanistan, Türkiye, Lübnan ve Libya'da oldukça sınırlı bir dağılım göstermiştir. Türler belirgin bir şekilde 2 dudaklı 5 dişli çanak yapraklara sahiptir.

III. *Brevifilamentum* Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyon, çoğunlukla Türkiye'nin Doğu bölgelerinde ve dar alanlarda yayılış gösteren 6 türü kapsamaktadır. Bu türlerde çanak yapraklar 2 dudaklı, erkek organlar uzunluk bakımından belirgin biçimde farklı, üstte yer alan çok kısa ve taç yaprağın içinde yer almaktadır.

IV. *Longitubus* Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyon sadece bir türü içermektedir. Amanos Dağları'nın birkaç bölgesinde bulunmaktadır. Bu tür tam belirgin olmayan bir biçimde iki dudaklı çanak yapraklı, taç yaprak dudakları tüpe ve çok kısa erkek organları taşıyan iplikçiğe (staminal filaments) doğru oldukça açılı biçimde yer almıştır.

V. *Chilocalyx* (Briquet) Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyonda, Girit adasının veya Güney Anadolu'nun lokal endemiklerini içeren 4 tür vardır. Bitkiler, hafifçe (slightly) iki dudaklı ve boğazı bariz bir biçimde yumuşak seyrek tüylerle (pilose) kaplı çanak yapraklara sahiptir.

VI. *Majorana* (Miller) Bentham seksiyonu: Bu seksiyon 3 tür ve *O. syriacum* türüne ait varyetelerle birlikte 5 taksonu içermektedir. Üç tür de 1 dudaklı çanak yaprak ve yeşil renkte braktelerle karakterizedir. *O. syriacum* coğrafik olarak yayılışları birbirinden farklı üç varyeteye ayrılır. Bunlar genellikle tüylülük ve yaprak şekillerindeki farklılıklar nedeniyle ayrılırlar.

VII. *Campanulaticalyx* Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyona ait 6 lokal endemik tür bulunmaktadır. Bitkilerin çanak yaprakları kısmen eşit boyda 5 dişe sahiptir ve meyveli dönemde de çansı biçimlidir.

VIII. *Elongatispica* Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyon Kuzey Afrika'nın 3 lokal endemik türünü içermektedir. Dağınık ve ince başaklı, 5 eşit dişe sahip boru biçiminde çanak yapraklarla karakterize edilir.

IX. *Origanum* seksiyonu: Bu seksiyon sadece *O. vulgare* türünü içermektedir. Kuzey Afrika ve Avrasya'da geniş ölçüde yayılış gösteren ve insanlar tarafından taşınan bu türe Kuzey Amerika'da da rastlanmıştır. *O. vulgare* yoğun başaklı, meyvede asla

topaçası biçime dönüşmeyen 5 dişli boru biçiminde çanak yapraklıdır. Bu türe ait 6 alt tür, tüylülük durumu, yaprak, çanak yaprak ve brakteler üzerindeki sapsız salgı bezlerinin sayısı, braktelerin, çiçeklerin rengi ve boylarındaki farklılıklarla ayrılırlar. En güneyde yayılış gösteren *O. vulgare* 'nin 3 alt türü uçucu yağlar bakımından zenginken, kuzey bölgelerde yayılış gösteren alt türlerin uçucu yağlar bakımından fakir oldukları saptanmıştır.

X. *Prolaticorolla* Ietswaart seksiyonu: Bu seksiyonda Akdeniz'in doğu ve batı kısımlarına endemik 3 tür bulunmaktadır. Bu türler yoğun başak ve meyveli dönemde topaçası şekle dönüşen boru biçiminde çanak yapraklara sahiptir (Kokkini 1997).

2.2. *Thymus* L.

Türkiye florasında 37 tür ve 55 taksonla (tür, alt tür, varyete) temsil edilen *Thymus* cinsi (Jalas 1982, Davis 1988, Güner vd 2000), 2004 yılında Bayram Yıldız tarafından yapılan revizyon çalışması sonunda 38 tür, 55 takson olarak değerlendirilmiştir (Yıldız 2004). *Thymus* türleri, ginodioiklik ve kimyasal polimorfizm olarak iki tip polimorfik varyasyon göstermektedir. Ginodioiklik, bir türün doğal populasyonlarında dişi çiçekli ve hermafrodit çiçekli bireylerin bir arada bulunması durumudur. Hermafrodit bireylerde hem polen hem de ovül oluşturlarken, dişi bireylerde ise sadece ovül mevcuttur. Thompson ve Manicacci (1998) Fransa ve İspanya'da yaptıkları araştırmalarda *Thymus* populasyonlarında dişi çiçekli bireylerin oranının %5-90 arasında değiştiğini, ortalama %60 civarında olduğunu belirlemişlerdir. Ancak, tüm ginodioik bitkilerde olduğu gibi mekanizma karmaşıktır. Tüm ginodioik bitkilerde olduğu gibi, *Thymus* türlerinde de hem nükleer kalıtım hem de sitoplazmik kalıtım bulunmaktadır (Stahl-Biskup 2002).

2.3. Taksonomide Yaygın Olarak Kullanılan Karakterler ve Markırlar

Bir bireyi başka bir bireyden ayırmak veya onunla kıyaslamak için kullanılan bireyin kendine özgü yapı, şekil ve davranış özelliklerine “karakter” denir. Genellikle morfolojik ve anatomik karakterlerin kullanıldığı, klasik taksonomi, bunlara ek olarak,

palinolojik, embriyolojik, sitogenetik, fitokimyasal ve moleküler karakterlerin kullanıldığı modern taksonomi anlayışına yerini bırakmıştır. Geçtiğimiz yüzyılın sonlarına doğru moleküler biyoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak moleküler markır (ve özellikle DNA dizi analizleri) teknolojileri taksonomik ayırmada nesnel ve vazgeçilmez araçlar haline dönüşmüşlerdir (Ince vd 2005).

Tek bir karaktere göre yapılan sınıflandırma genellikle yanlış ve eksik olmaktadır. Sınıflandırmada seçilen karakterler eşit taksonomik değer taşımalı ve diğer karakterlerle uygunluk göstermelidir. Sistematikte kullanılan temel karakterler 8 grupta toplanabilir. Bunlar i) morfolojik karakterler, ii) anatomik karakterler, iii) palinolojik ve embriyolojik karakterler, iv) sitolojik karakterler, v) fitokimyasal karakterler, vi) biyokimyasal markırlar (enzim veya protein markırları), vii) moleküler markırlar ve viii) kombine sistemler (Sytsma ve Pires 2001).

2.3.1. Morfolojik karakterler

Klasik taksonomide genellikle morfolojik (hayat formu, kök, gövde, yaprak, çiçek ve çiçek durumu, meyve, tüy durumu) ve anatomik karakterler (yaprak ve odun anatomisi) kullanılmaktadır. Günümüzde genetik, fitokimya ve palinoloji konularında bir hayli ilerlemelere rağmen, morfolojik karakterler somut nitelikleri nedeniyle sistematikte kullanılan temel karakter olma özelliğini korumaktadır (Dığrak ve İçlim 2002).

Morfolojik karakterler kolaylıkla gözlemlenebilen teşhis anahtarlarına göre betimlemede pratik kullanımı bulunan karakterlerdir (Judd vd 2007). Ancak morfolojik karakterler günümüzde de kullanılmasına rağmen, incelenen özelliklerin çevre koşullarından etkilenmeleri, her tür için morfolojik varyasyonun yeterli düzeyde olmayışı, çalışılan karakterlerin bir lokusla sınırlayıcı oluşu ve bazı karakterlerin ortaya çıkması için generatif döneme kadar beklenmesi bu yöntemi genetik varyasyonu ortaya koymada çoğu kez başarısız kılmaktadır (Sytsma 1990).

Morfolojik karakterler temelinde yapılan tanımlamalar bazı durumlarda genotip ve türler arasındaki akrabalıklar arasında karışıklıkla sonuçlanabilmektedir. Sytsma (1990) ve Sytsma ve Pires (2001) DNA ve morfolojik temelli yaklaşımlarla incelenen bitki

gruplarının çoğunda elde edilen filogenetik sonuçların yakın benzerlik gösterdiğini ve her iki yaklaşımında birlikte göz önünde bulundurularak yapılan çalışmaların filogenik açıdan daha nesnel sonuçlar ortaya koyacağını bildirmişlerdir.

Staub vd (1996) morfolojik markırların; sayılarının az olması, çevre faktörlerinden etkilenmesi, epistatik ve pleiotropik etkilere maruz kalması, genellikle resesif olmaları ve birçoğunun mutasyonlar sonucu oluşması gibi olumsuz özellikleri nedeniyle kullanımlarının sınırlı olduğunu belirtmiştir.

Gönüz ve Özgörücü (1999) *Origanum onites* L.'in yükseklik değişikliklerine bağlı olarak morfolojik, anatomik, ekolojik ve fenolojik özellikler üzerindeki değişiklikler ile eterik yağ miktarındaki farklılıkları araştırmışlar, yükseklik artışına paralel olarak iletim dokusu ve korteks alanlarında bir artışı, benzer şekilde bitkinin gövde ve alt yaprak boylarında bir azalma gözlediklerini, eterik yağ miktarının da yüksekliğe paralel olarak arttığını bildirmişlerdir.

Novak vd (2002) *Origanum* L. cinsinde kaliks biçimlerinin kalıtımını incelemişler, 5 farklı kaliks karakterinin 5 farklı tek genin kontrolü altında olduğunu bildirmişler, *Origanum* cinsinde türler arası melezlemeleri tanımlamak için morfolojik markır olarak kaliks biçimlerinin kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Kofidis vd (2003) *Origanum vulgare* L. türünde yükseklik (200, 950 ve 1760 m) ve mevsimin (Nisan-Ekim) yapraklardaki yapısal özellikler üzerine olan ortak etkilerini araştırmaları sonucunda yüksekliğin artmasıyla bitki boyunun kısaldığını, bütün yüksekliklerde büyüme periyodu süresince bitki boyunun, yaz bitkilerinde, bahar ve sonbahar bitkilerinden daha uzun olduğunu, Ekim ayında olgunluğa ulaşan yaprakların Haziran ayında olgunluğa ulaşan yapraklardan daha kısa olduğunu yükseklik arttıkça yaprakların daha kalın ve yuvarlak şekillerde olduğunu belirlemişlerdir.

Ünal vd (2005) Antalya için endemik olan *Origanum solymicum* P.H. Davis, *Origanum husnucanbaseri* H. Duman, Z. Aytaç & A. Duran, *Origanum bilgeri* P.H. Davis ve *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis türlerinin biyolojik

özelliklerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada; *O. bilgeri* türünün yetiştiği toprağın organik madde ve azot içeriği bakımından diğer türlerin yetiştiği topraklara göre daha zengin olduğunu ve bütün türlerin yetiştikleri topraklardaki organik madde ve azot içeriği ile organlardaki azot ve protein içeriği arasında bir paralellik olduğunu, tespit etmişlerdir. Morfolojik karakterler yönündense, çalışmada kullanılan *O. solymicum* türünün diğerlerinden daha uzun boylu, daha büyük brakte, kaliks, korolla ve tohumlara sahip iken, *O. husnucanbaseri* türünün kısa boylu olmasına rağmen, büyük brakte, kaliks, korolla ve tohumlara sahip olduğunu, *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* ise küçük boylu olup küçük brakte, kaliks, korolla ve tohumlara sahip ve ayrıca *O. minutiflorum* türünün diğer üç türden farklı olarak daha fazla öbek oluşturduğu ve buna bağlı olarak verimliliğinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Manicacci vd (1996) *Thymus vulgaris* türünün dişi ve hermafrodit bireylerinin bir arada bulunduğu ginodioik bir tür olduğunu ve dişi bireylerin doğal populasyonlarda büyük ölçüde farklılık gösteren frekanslarda bulunduğunu belirtmişlerdir. Cinsiyet oluşumunun erkek kısırlıktan yani dişi fenotipten sorumlu sitoplazmik ve erkek fertilitenin onarımından yani hermafrodit fenotipten sorumlu çekirdeğe özgü genlerle ilişkisi olduğunu ifade etmiştir.

Manicacci vd (1998) *Thymus zygis* ve *Thymus mastichina* türlerinde cinsiyet ve üreme sistemlerindeki genel özellikler üzerinde yaptıkları çalışmada dişi çiçeklerin frekanslarının türler ve doğal populasyonlar arasında yüksek ortalamada olduğunu ve belirgin biçimde farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Populasyonlardaki dişi çiçek frekansının yüksek oluşu ve eşeysel fenotipte görülen baskın maternal kalıtım *T. zygis* ve *T. mastichina* türlerinde de *T. vulgaris*'te olduğu gibi cinsiyet tayininin çekirdek sitoplazmik faktörlerin etkisinde olduğunu ve ginodioik özellik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Akçin (2006) *Thymus* L. cinsine ait bazı türler üzerinde morfolojik ve kimyasal karakterler kullanarak yapmış olduğu çalışmada morfolojik ve kimyasal verilerden elde edilen dendogramların benzer olduğunu, ancak uçucu maddelerin çevresel faktörler tarafından değişebilmesi nedeniyle *Thymus* L. türlerinin lokalitelerine bağlı olarak

uçucu yağ içeriklerinin farklılık gösterdiğini, kantitatif karakterler temelinde yapılan analizlerin taksonlar arasındaki olası ilişkileri açıklamada morfolojik karakterlere göre daha güvenilir sonuçlar verdiğini bildirmiştir (Akçin 2006).

2.3.2. Anatomik karakterler

Anatomik karakterler bitki taksonomisi ve filogeninin aydınlatılmasında önemli bir yere sahiptir. Ancak çevresel faktörlerin anatomik karakterler üzerinde büyük rol oynaması nedeniyle morfolojik özellikler olmaksızın anatomik özellikler üzerine tek başına sınıflandırma yapılamamaktadır. Anatomik karakterlerin başında yaprak ve odun anatomileri gelmektedir. Yaprak anatomisinde, epidermis hücrelerinin özellikleriyle, palizat ve sünger tabakalarının özellikleri, odun anatomisinde ise iletim demeti özellikleri ön plana çıkmaktadır (Dığrak ve İçlim 2002).

2.3.3. Palinolojik ve embriyolojik karakterler

Polen morfolojisi, tür, cins ve daha yukarı sistematik kategorilerde hem taksonomik hem de filogenetik açıdan önemli değer taşımaktadır. Çoğu kez bir taksona ait olan polen tipi değişmez, sabittir. Böyle taksona “Stenopalinoz takson” denir. Asclepiadaceae, Cruciferae, Lamiaceae ve Graminaea familyaları başlıca örneklerdir. Polen tipi değişken olan takson ise “Euripalinoz takson” olarak adlandırılmaktadır. Euripalinoz familyaların sayısı oldukça çoktur. Bunlardan olan Verbenaceae familyası diğer özellikleriyle Lamiaceae familyasına çok benzemektedir. Polen tanelerinin taksonomik değeri olan başlıca özellikleri; i) polenler üzerinde yer alan olukların sayısı ve yapısı, ii) açıklıkların (apertür) ve yapısı, iii) eksin zar (dış zar) üzerindeki süslerin biçimi (ornemantasyon), şeklinde sıralanmaktadır (Dığrak ve İçlim 2002, Judd vd 2007).

Akyalçın (2003) Türkiye’de yetişen *Origanum* L. cinsine ait 22 taksonda polen morfolojisini incelemek amacı ile morfolojik karakterlerin yanı sıra ışık ve elektron mikroskobu kullanarak yapmış olduğu inceleme sonucunda *Chilocalyx* seksiyonuna ait *O. bilgeri*, *O. minutiflorum* ve *O. micranthum* türlerinde benzer polen yapılarının olduğunu *Brevifilamentum* seksiyonunda yer alan *O. husnucanbaseri* türünün ise polen yapısı bakımından farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Wink (2003) polen morfolojisi bakımından Lamioideae ve Nepetoideae olmak üzere iki alt familyaya ayrılan Lamiaceae familyasında *rbcl* nükleotid sekans sonuçlarının bu ayrımı desteklediğini, iki alt familyanın sekonder metabolitler bakımından da belirgin farklılıklar gösterdiğini, Lamioideae alt familyasının monoterpenlerden köken alan iridoid glikozitlerce zenginken Nepetoideae alt familyasının ise uçucu monoterpenler bakımından zengin özellik gösterdiğini bildirmiştir.

Embriyolojik karakterler ise son yıllarda taksonomide kullanılmaya başlanmıştır. Taksonomik değere sahip embriyolojik özellikler; diploid, haploid ve sporofit (embriyo ve endosperm içerir) generasyonlar olmak üzere 3 generasyonda bulunmaktadır. Her 3 generasyonda pek çok özellik taksonomik değer taşımaktadır. Taksonomik değeri olan embriyolojik karakterlerin başında plasentasyon ve tohum taslağı tipleri gelmektedir (Dığrak ve İçlim 2002, Judd vd 2007).

2.3.4. Sitolojik karakterler

Sitolojik karakterlerin taksonomide kullanımı da palinolojik ve embriyolojik karakterler gibi yeni sayılır. Bitkilerin kromozom sayıları ve özellikleri çok önceden bilinmekle birlikte bunların taksonomik yönden değerlendirilmesi oldukça yeni bir yaklaşımdır. Taksonomide kullanılan sitolojik karakterlerin başında kromozom sayısı ve kromozom morfolojisi (büyüklük, hacim, biçim) gelmektedir (Dığrak ve İçlim 2002, Judd vd 2007). Özellikle son 15-20 yıllık dönemde "Flow Cytometry", "Fluorescent *in situ* Hybridization" (FISH) ve "Pulse Field Gel Electrophoresis" (PFGE) teknikleri yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır.

2.3.5. Fitokimyasal karakterler

Bitkilerde bulunan kimyasal maddelerle filogenetik ilişkiler arasında genellikle bir paralellik söz konusudur. Bitkilerde kullanılabilen kimyasal maddeler 2 grupta toplanmış olup, birinci grupta direkt olarak görülebilen nişasta ve alevron taneleri, rafitler vb. gelmektedir. Nişasta, plastitlerde tanecikler halinde gelişir. Tanelerin; basit veya bileşik, düz veya tabakalı, kalınlaşma tabakalarının (halkalar) ortak veya ayrı olması gibi özellikler bunlara çeşitlilik kazandırır. Rafitler ise kalsiyum oksalat

kristallerinden oluşan demet veya salkımlı yapıdadır. Bunların bitkide bulunup bulunmayışı önemli bir özelliktir. Örneğin; Caryophyllaceae cins ve türlerin ayırımında bu özellikten yararlanılmaktadır. Rafitlerin 35 angiosperm familyasında bulundukları tespit edilmiştir. İkinci grupta ise varlığı kimyasal deneylerle tespit edilebilenler gelmekte olup bunlar alkaloidler, glikozitler, flavanoidler, terpenoidler, tanenler vb oluşmaktadır.

Alkaloidler çok az bitkide bulunmalarından taksonomik yönden önemlidirler. Bir cinsin genellikle bütün türleri aynı alkaloidleri taşıması nedeniyle, alkaloidler cinslerin ayrılmasında önemli yer tutmaktadır. Ayrıca familya düzeyinde de taksonomik değer taşımaktadır. Diğer taraftan fitokimyasal karakterlerin taksonomik yönden değerlendirilebilmelerini sınırlandıran bazı faktörler de söz konusudur. Bunlar i) hiyerarşik sınıflandırmanın her seviyesinde kullanılamaması ii) birincil karakter olarak alınamaması iii) kimyasal maddeleri tanımlamak için çoğu kez canlı materyale gerek olması nedeniyle sınıflandırmada pratik olmaması iv) kimyasal maddelerin genellikle sıcaklık, mineral eksikliği gibi ortam şartlarından etkilenmeleri v) kimyasal maddelerin ortama adaptasyon özelliği konusunda çok az bilginin varlığı vi) kimyasal maddelerin çoğunun bitkide oluşum mekanizmasının bilinmemesi ve vii) filogenetik akrabalıklarla kimyasal özellikler arasında her zaman paralellik göstermemeleri, olarak sıralanabilir. Bütün bunlar göz önünde tutulursa, tek başına kimyasal maddelerin taksonomik yönden değerlendirilmesinin yeterli olmayacağını ortaya koymaktadır (Dığrak ve İçlim 2002, Judd vd 2007).

Houmani vd (2002) *Origanum floribundum* Munby, *Origanum vulgare* L. ssp. *gladulosum* (Desf.) Ietswaart ve *Thymus wilddenowii* Boiss., *Thymus algeriensis* Boiss. & Reuter türlerinin analiz sonucunda, 4 türde de karvakrol sentezinde yer alan bileşikler bakımından zengin olduklarını, tür içi ve türler arasında uçucu yağ miktarı açısından belirgin farklılıkların olduğunu, *Origanum floribundum* türünde başlıca bileşenleri; p-simen, timol ve karvakrol, *Origanum vulgare* L. ssp. *gladulosum* türünde ise γ -terpinen, timol metileter, karvakrol metileter ve timol olduğunu, *Thymus wilddenowii* türünde ise p-simen, timol ve karvakrol oluşturduğunu, *Thymus algeriensis* türünde de iki örnekten birinde linalool diğeri ise timol bileşenince zengin olduğunu bildirmişlerdir.

Linhart ve Thompson (1999) *Thymus* L. cinsine ait türlerde, geraniol, linalol, α -terpineol, tujanol, karvakrol veya timol monoterpen maddelerinden birini dominant öz olarak ürettiklerini ve bu maddelerin bakteri, mantar, diğer bitkiler ve otçul hayvanlar üzerinde toksik büyüme engelleyici özelliklere sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Baydar (2002), Isparta ili ekolojik koşullarında kültüre alınan İzmir kekiğinin (*Origanum onites* L.) agronomik ve teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, 1998 ve 2001 yılları arasında yaptığı araştırmada, yaş ve drog herba verimi, uçucu yağ verimi ve içeriği ile uçucu yağ bileşenlerini incelemiş, dört yıl ortalaması olarak 230.5 kg/da drog herba verimi ve 7.07 l/da uçucu yağ verimi elde etmiştir. İlk biçimlerden son biçimlere doğru gidildikçe drog herba ve uçucu yağ veriminin azaldığını, genel olarak karvakrol içeriğinin ileriki yıllara doğru azaldığını, ancak ileri biçim dönemlerine doğru arttığını, en yüksek karvakrol oranının çiçek salkımlarından elde edilen yağlarda bulunduğunu bildirerek, timol oranlarının ise genel olarak karvakrolun tersi olan bir seyir izlediğini ve en yüksek timol oranının yapraklardan elde edilen yağlarda bulunduğunu ifade etmiştir.

Ceylan vd (2003) Antalya, İzmir ve Muğla illerinde toplam 18 bölgede yetişen *Origanum onites* L. türüne ait 1362 tek bitkiden seçtikleri 75 *Origanum onites* hattının uçucu yağ içeriği herba verimi ve bitki ağırlığını değerlendirdikleri çalışmada en yüksek kuru ve taze herba verimini Antalya-Manavgat-Side klonlarından sağladıklarını, en yüksek uçucu yağ içeriğinin ise Muğla Bodrum Yalıkavak klonundan elde ettiklerini, bu çalışmada yükseklikle verim, uçucu yağ içeriği arasında pozitif bir korelasyonun bulunmadığını bu nedenle morfolojik ve fizyolojik tanımlama ile kimyasal kompozisyon arasında kesin bir ilişki kurmanın zor olduğunu belirtmişlerdir.

Li vd (2008) kimyasal markırların hasattan pazarlamaya kadar tıbbi bitkilerin kalitesinde önemli rol oynadıklarını ifade ederek, kimyasal markırları: iyileştirici (teröpatik), canlı organizmalara etki eden (biyoaktif), karşılıklı etkili olan (sinerjik), özgün nitelikte olan (karakteristik), karşılıklı ilişkisi olan (korelatif), zararlı etkisi olan

(toksik), belli başlı ve genel bileşenler (komponent) olmak üzere yedi sınıf altında değerlendirmiştir.

Mewes vd (2008) *Thymus vulgaris* türüne ait farklı orijinlerden gelen 39 aksesyonda kışa dayanıklılık, çiçeklenme başlangıcı, yükseklik, kuru herba verimi, uçucu yağ içeriğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, populasyonlar arasındaki en güçlü varyasyonun, kuru herba veriminde ve uçucu yağ içeriğinde olduğunu bildirmişlerdir. Vernet vd (1986) *Thymus vulgaris* L.'de monoterpen üretimindeki farklılıklardan 6 ayrı kemotip karakterize ederek uçucu yağ içeriğinin genetik kontrolünü belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada monoterpenlerin bir dizi lokus tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Monoterpen sentezinin dominant epistatik gen etkisi altında gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

2.3.6. Biyokimyasal markırlar

Sistematik veriler genellikle 1960'lı yıllara kadar morfolojik farklılıklardan elde edilirken, 1960'lardan sonra biyolojik makro moleküller evrimsel ve sistematik çalışmalarda giderek önemli hale gelmişlerdir (Onarıcı ve Sümer 2003). Bitkilerde kullanılan ekstraksiyon kaynağına göre genel olarak protein (enzimatik olmayan) veya izoenzim (enzimatik) analizi şeklinde uygulanan bu markırlar, genetik markırlar alanında sağlanan gelişmenin temelini oluşturmaktadır. Canlı metabolizmasında tür veya hücreye özgü bir enzimin aynı biyokimyasal olayları katalize eden ve değişik genler tarafından kodlanan, farklı elektrik yüklü çoklu formları izoenzim olarak tanımlanmaktadır. İzole edilen proteinler veya enzimler, protein ve izoenzimleri ayırt etmede çok fazla kullanılmakta olan poliakrilamid agaroz jel elektroforesis (PAGE) veya nişasta gibi bir destek materyali üzerinde, belli pH değerine sahip olan tampon çözelti içinde elektrik alanı yaratılarak taşıdıkları yük ve kütlelerinin oranına (toplam yük/kütle) göre farklı hızlarda hareket etmeleri prensibine göre ayrıştırılmakta ve ilgili proteine ait seçici boyama teknikleri kullanılarak proteinin jel içinde bulunduğu pozisyon belirlenerek bu pozisyona göre farklı alleller tanımlanmaktadır (Staub vd 1996, Yıldırım ve Kandemir 2001, Onarıcı ve Sümer 2003). Enzim markırları; eşbaskın özellik göstermeleri, analizlerinin ucuz ve çabuk olması gibi avantajlara sahip olmakla birlikte, gen ürünü oldukları için DNA markırlarına göre sayıca az olmaları, dokulara ve gelişme dönemlerine göre değişkenlik göstermeleri ve çevre faktörlerinden (özellikle

sıcaklıktan) etkilenmeleri kullanımlarını sınırlandırmaktadır (Tanksley 1983, Thomas vd 1993).

Genellikle eşbaskın allele sahip tek genle yönetilen ve lokus/allel modelleriyle açıklanabilen izoenzim analizlerinde bitkilerin farklı organ ve dokuları kullanılabilir. İzoenzimlerin yanı sıra tohum depo proteinleri de birçok türde tanımlamalarda kullanılmıştır. Tohumun saklanması kolay olması, tohumun toplam proteininden elektroforesis yapılması ve izoenzimlerden kolay olması, tohum depo proteinlerinin kullanılmasına neden olan faktörlerdir (Bachmann 1993).

Bachmann (1993)' a göre enzimler ile DNA markırları arasındaki farklardan birisi DNA markırlarının sayıca çok fazla olmasıdır. DNA markırları genomun tümünü kaplamakta iken enzimi kodlayan lokuslar genom boyunca rastgele dağılım göstermemektedirler.

Golembievski vd (1997), izoenzim elektroforesis metodunu kullanarak *Agrostis stolonifera* çeşitlerini belirlemişler, ancak sınırlı sayıda izoenzim içermesinden dolayı oldukça yakın genotipler arasında çok az polimorfizimin bulunduğunu belirtmişlerdir. Zaouali ve Bossaid (2006) farklı coğrafi bölgelerden toplanmış *Rosmarinus officinalis* L. örneklerinde uçucu madde ve izozim markırları ile yaptıkları populasyon yapısının karşılaştırmalı analizi sonucunda genetik ve kimyasal verilerin büyük ölçüde bağlantılı olduklarını, terpenoid analiz sonuçlarının morfolojik ve izozim özelliklerle uyum içinde olduğunu bildirmişlerdir.

2.3.7. Moleküler markırlar

Moleküler markırlar, kaynağını kendilerinin üretildiği canlıların hücrelerinde bulunan DNA'lardan almaktadır. Canlıların yapısını belirleyen genetik şifre de DNA zincirlerinde olduğundan moleküler markırlar, bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın

güvenirlilikle değerlendirilmektedirler. Bugün moleküler markırlar bitki sistematğinde, ıslahında ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır (Kaufman ve Wink 1994, Sunnucks 2000, Aydın 2004, Gülşen ve Mutlu 2005). DNA devriminin bitki sistematğı üzerine etkisi, fenolik bileşiklerce zengin bitki dokularının korunması ve DNA izolasyonunda karşılaşılan sorunların çözümlenmesi, PZR alanındaki gelişmelere paralel bir biçimde nükleik asit temeline dayalı genetik markırların türlerin taksonomik tanımlamasında filogenetik akrabalıkların bulunması konularında yapılan çalışmaları arttırmıştır (Sytsma ve Hahn 1994).

Son yıllarda sistematik çalışmalarında yaygın olarak kullanılan moleküler markırlar; i) çevresel faktörlerden etkilenmezler, ii) çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışılabilir, iii) epistatik ve pleiotropik etkilere hassas değildirler, iv) her bir ebeveynden gelen farklı karakterler belirlenebildiğı için bitkilerin genetik orijini tespit edilebilir, v) sonsuz sayıda moleküler markır elde edilebilir ve vi) bütün bir genomun analiz edilebileceğı DNA'yı elde etmek için az miktarda bitki dokusu yeterli olmaktadır. (Botstein vd 1980, Tanksley 1983, Crawford 2000, Gülşen ve Mutlu 2005).

Bitkilerde kalıtım biçimlerinde 3 farklı genom söz konusudur. Çekirdek genomu biparental (anne ve baba) biçimde kalıtılırken kloroplast ve mitokondri genomları ise uniparental (genellikle annesel) olarak kalıtılmaktadır. Organel genomlarındaki kalıtımın uniparental doğasında rekombinasyonlar söz konusu olmadığı için filocoğrafik ve filogenetik çalışmalarda özellikli kılar. Kloroplast ve mitokondri çoğu kapalı tohumlularda maternal olarak kalıtılmaktadır. Bu nedenle evrimsel ilişkilerin belirlenmesinde kloroplast ve mitokondri tabanlı markırlar çekirdekten elde edilen markırlardan daha uygundur (Kaufman ve Wink 1992, Belhassen 1993, Onarıcı ve Sümer 2003).

Wagstraft vd (1998) Lamiaceae familyasına ait 33 tür, *rbcL* ve *ndhF* kloroplast DNA sekansları ile analiz edilmiş ve Lamiaceae familyasının morfolojisinin moleküler filogeni ile desteklendiğini bildirmişlerdir. Kaufman ve Wink (1992) Lamiaceae familyasına ait *Origanum vulgare*, *Melissa officinale*, *Majorana hortensis*, *Mentha*

longifolia türlerine ait *rbcL* genlerinin sekans analizinden elde ettikleri bulgular sonucunda, *Origanum* cinsinin bir üyesi olan *Majarona hortensis* (*O. majorana*) ve *Origanum vulgare* türlerine ait sekans verilerinin bu iki türü farklı gruplara ayırdığını belirtmişlerdir. Wink ve Kaufman (1996) Lamiaceae familyasının Lamioideae alt familyasına ait 25 türünde *rbcL* gen sekanslarını analiz etmişler ve *Ajuga*, *Lamium*, *Marubium*, *Prostanthers*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Teucrium* ve *Westringia* cinslerine ait türler arasındaki filogenetik ilişkinin klasik sistematığın temel anahtarı olan morfolojik karakterlerle uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Kaufman ve Wink (1994) Lamiaceae familyasının yaklaşık 220 cinsten gruplanmış 4000'den fazla türü kapsadığını, Lamiaceae familyasının sınıflandırmasının hala tartışma konusu olduğunu bildirmişlerdir. Lamiaceae familyasının Nepetoidea alt familyasına ait 41 taksanın aralarındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek amacıyla *rbcL* gen sekanslarından elde ettikleri filogeni ağacında bu alt familyada bulunan *Majarona hortensis* (*O. majorana*) türünün *Origanum vulgare* türünden önemli ölçüde uzak bir dalda yer aldığını ve dolayısıyla *Majarona*'nın kendisinin bir cins olarak değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Tüm yüksek yapılı organizmaların (ökaryotlar) genomlarındaki bir veya daha fazla özelliğin karakterizasyonu DNA bantlarının ortaya koyulması ile olur. Farklı büyüklükte ve farklı sayıdaki DNA bantlarının analizi her birey için spesifiktir. Bu bantların ortaya koyulması ile her birey için DNA parmak izi elde edilmiş olur. DNA profillerinin çıkarılması ve spesifik DNA parmak izlerinin elde edilmesi şu şekilde sıralanabilir: i) bitkisel materyalin temini, ii) bitkisel materyalden DNA izolasyonu, iii) kullanılacak yönteme göre genetik materyalin çoğaltılarak (örneğin PZR), bireyler arasındaki polimorfizimin farklı moleküler markır teknikleri ile belirlenmesi (RAPD, RFLP, SSR, AFLP, SCAR, SSCP) ve iv) DNA bant (markır veya amplikon) profillerinin spesifik bir programda analiz edilmesi ve sonuçların yorumlanması (Karaca vd 2005).

DNA markır teknikleri, hibridizasyona ve PZR' dayalı teknikler olmak üzere iki bölüme ayrılabilir. Hibridizasyon temelli tekniklerde DNA/DNA veya

DNA/RNA arasında melez moleküller oluşturularak istenilen DNA parçalarının genomdaki yerleri belirlenebilmekte ve bu parçaların nükleotid dizileri araştırılabilmektedir. Ayrıca farklı organizma gruplarına ait genlerin ya da DNA parçalarının nükleotid dizisi benzerlikleri araştırılarak bu organizmaların yakınlık dereceleri moleküler düzeyde tespit edilebilmektedir. Nükleik asit hibridizasyonu, DNA'nın kromozomda yerleşim biçimini bozmadan *in situ* yapılabilirdiği gibi daha çok jel elektroforesisinde ayırımı yapılmış DNA ya da RNA'nın bir filtreye aktarılması ("Southern" veya "Northern blotting") ve daha sonra herhangi bir şekilde işaretlenmiş tamamlayıcı bir nükleik asit parçası (prob) kullanımıyla sağlanmaktadır (Yılmazer vd 2004)

Kesilmiş parçaların uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak adlandırılan ve çeşitli şekillerde kesici enzimler (restriksiyon enzimleri) ile kesilerek etiketlenmiş DNA parçalarının ("prob") araştırılan DNA  rneği ile hibridizasyonuna dayalı bir tekniktir. Kesilen DNA parçacıklarının jel elektroforesis yöntemi ile ayırıtılmasını ve bu parçacıkların membrana emdirilmesi ("blotting") sonucunda prob DNA hibridizasyonu olaylarını içermektedir. RFLP tekniği kesim enzimlerinin tanıdığı bölgedeki tek nükleik asit baz değişikliğini dahi tanımaktadır. RFLP analizlerinin bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. RFLP tekniğinin avantajları olarak i) türler, cinsler hatta familyalar arasında transferi mümkündür. Bir bitki türünde RFLP markırı haritalanmışsa akraba olan birçok bitki sistemi için o haritalama bölgesinde potansiyel bir markır bulunuyor demektir, ii) güvenilir ve tekrarlanabilirdir. Farklı laboratuvarlarda ve farklı araştırıcılar tarafından aynı sonuçlara ulaşılabilmektedir, iii) RFLP markırları eşbaskın özellikte oldukları için heterozigotların belirlenmesinde ve karakterizasyonlarında kullanılmaktadırlar ve iv) orta düzeyde polimorfizm göstermektedirler (Tanksley vd 1989). Diğer taraftan RFLP tekniğinin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar; i) analizleri pahalı, fazla zaman alıcı ve çok fazla iş gücü gerektirmektedir, ii) oğu durumlarda yaygın olarak radyoaktif etiketleme yöntemi kullanılmaktadır (Bretting ve Widrechner 1995). Ancak son yıllarda flüoresan tabanlı RFLP yöntemleri de geliştirilmiştir, iii) yüksek kalitede ve miktarda DNA'ya ihtiyaç vardır, iv) az kopya edilen dizilişlerin genomlarda belli noktalarda kümelenmelerinden dolayı bazı RFLP markırları genom üzerinde rastgele dağılım

göstermedikleri için haritalamayı olumsuz yönde etkilemektedir. (Watson vd 1992, Yıldırım ve Kandemir 2001, Onarıcı ve Sümer 2003).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ilk olarak Kary Mullis tarafından geliştirilmiş olup, moleküler biyolojinin hızlı bir şekilde gelişmesinde katalizör olmuştur (Mullis ve Faloona 1987). PZR hücrede normal şartlar altında gerçekleşebilen doğal DNA replikasyonunun laboratuvar şartlarında bir termal döngü cihazı yardımı ile gerçekleştirilmesi temel ilkesine dayanmaktadır. PZR tekniğinin ortaya koyulması ile RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat veya Mikrosatellit), AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphism) markır sistemleri de geliştirilmiştir (Cregan 1992).

PZR metodu adli tıptan ekolojiye ve DNA teşhis çalışmalarından temel araştırmalara kadar her alanda uygulanma fırsatı bulmuştur. Yöntemin basit, kolay ve hızlı oluşu kısa sürede kabul görmesini sağlamıştır (Kumar 1989). PZR'ın çalışma prensibi, çok az miktardaki (genellikle ng düzeyindeki) kalıp DNA'da istenen bölgelerin *in vitro* koşullarda enzimatik yollarla milyonlarca kez çoğaltılıp, jelde yürütüldükten sonra boyanarak görüntülenmesi şeklindedir (Mullis ve Faloona 1987, Taberlet vd 1996). Çalışmada kullanılacak kalıp DNA incelenecek organizmalardan çeşitli yöntemlerle izole edilir. Primerler kalıp DNA da çoğaltılmak istenen bölgeye özeldirler ve PZR primerleri genellikle 10-24 adet baz içermektedirler. PZR tekniğinde günümüzde en yaygın olarak kullanılan polimeraz enzimi *Taq DNA* polimerazlardır. Bu enzim optimum 72°C sıcaklıkta çalışmakta olup, 94°C gibi yüksek sıcaklığa dayanıklılık özelliği söz konusudur. Genomik DNA'nın kısa oligonükleotid primerler kullanılarak çoğaltılması, çoğaltım protokolü ve reaksiyon koşullarına karşı duyarlıdır. Hedef DNA'nın konsantrasyonu, oligonükleotid primer, Mg^{+2} , DNA polimeraz miktarları, DNA kalitesi ile bağlanma ("annealing") sıcaklığı gibi termal döngü cihazı parametreleri DNA çoğaltımını etkileyen faktörlerdir. Bundan dolayı kritik parametreler moleküler tekniklerden herhangi birisinin çalışmalarına başlamadan önce optimize edilmelidir. PZR'ın çalışma prensibi ard arda tekrarlanan üç basamaktan oluşmaktadır. Çoğaltılacak DNA'nın (kalıp) yüksek sıcaklıklarda denatürasyonu ve bu işlem sonucunda tek sarmallı zincirin oluşturulması, kullanılan primerlerin oluşturulan bu tek

zincirli DNA molekülünde hedef bölgelere bağlanması ve son olarak DNA polimeraz enzimi kullanılarak primerlerin DNA zincirini tamamlayacak şekilde uzatılarak tekrar çift zincirli DNA oluşturulmasıdır. Bu üç basamak bir döngüyü oluşturmakta ve döngü sayısı 25-60 kez tekrarlanmaktadır. PZR tekniğinin kullanım alanları ise i) teşhis, ii) genetik yapısı değiştirilen organizmaların(GDO) tespiti, iii) moleküler klonlama iv) DNA baz dizilişlerinin belirlenmesi ve v) genetik akrabalık ve adli tıp vakalarının tespiti şeklinde özetlenebilir (Arı 2004).

PZR'ye dayalı bazı DNA markırlarına örnek olarak RAPD (Rastgele Oligonükleotid Primerleri ile Çoğaltılmış Polimorfik DNA'lar), DAMD-PZR (Doğrudan Çoğaltılmış Minisatellit DNA), PZR-RFLP (Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu), AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), STS (Dizini Etiketlenmiş Alanlar), SSR veya Mikrosatellitler (Basit Dizin Tekrarları veya STMS), SCAR (Dizin Karakterli Çoğaltılmış Bölgeler) ve SSCP (Tek Sarmal Konformasyon Polimorfizm) örnek olarak verilebilir.

RAPD metodu PZR'ye dayalı önemli metotlardan birisi olup, 10 nükleotid uzunluğundaki başlatıcı (primer) DNA'lar kullanılarak laboratuvar şartlarında enzimatik yollarla genom üzerinde rastgele bölgelerin DNA'nın çoğaltılması esasına dayanır. RAPD analizlerinin bazı avantajları ve dezavantajları vardır. RAPD tekniğinin avantajları i) hızlı sonuç vermesi, ucuz olması ve az iş gücü gerektirmesi, ii) az miktarda DNA'nın yeterli olması ve iii) yüksek polimorfizm oranına sahip olması şeklinde sıralanabilir. Diğer taraftan RAPD tekniğinin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar i) farklı laboratuvarlarda farklı sonuçlar hatta bir termal döngü cihazından diğerine farklı sonuç vermesi, ii) baskın (dominant) markır vermesi ve bu yolla elde edilen markırların diğer haritalara transfer edilemeyeşidir (Devos ve Gale 1992, Trindade vd 2008).

Sözen ve Poyraz (2008) CTAB DNA izolasyon metodunu *Origanum onites* türünde uygulamışlar elde ettikleri DNA'nın kesim enzimleri ile başarılı bir biçimde kesildiği, RAPD ve ISSR primerleri ile PZR'de çoğaltıldığını bildirerek sonuçta CTAB metodunun uçucu yağ, alkaloit, flavanoit, fenol, terpen ve quinon gibi sekonder

metabolit üreten diğer tıbbi ve aromatik bitkiler için de etkili ve uygun bir metot olduğunu bildirmişlerdir. Katsiotis vd (2009) *Origanum* türlerinde ribozomal DNA (rDNA) sekansları ve *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türünde rDNA sekansları ve RAPD primerleri kullanarak tür içi farklılık ve filogenetik ilişkileri belirlemek amacıyla yapılan çalışmada tür içi ve türler arası farklılığın yüksek olduğunu bu durumun genetik heterozigotluktan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Farklı coğrafi bölgelerden köken alan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türleri arasındaki genetik farklılığın istatistiksel düzeyde önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Gounaris (2002) *Origanum vulgare* ve *Origanum onites*'in melezi olduğu düşünülen *Origanum x intercedens*'in ebeveynleri ile genetik ilişkilerini RAPD primerleri ile analiz etmeleri sonucunda melez *Origanum* çeşidinin genetik olarak *Origanum onites*'e daha yakın olduğunu saptamışlar, daha sonra yaptıkları yağ içeriği analizinde ise *Origanum x intercedens*'in *Origanum vulgare*'ye benzerlik gösterdiğini, bu durumun uçucu yağ sentezini kontrol eden genlerin toplam genom kompozisyonuna olan katkısının sınırlı olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. RAPD primerlerinin yaprak uçucu yağ analizi ile veya tek başına kullanılmasının iki türü ve melezini kolaylıkla ayırabildiğini belirtmişlerdir.

Klocke (2002) *Origanum majorana* türünde hibrit ıslahı amacıyla farklı kaynaklardan toplanmış aksesyonlarda genetik farklılığı belirlemek amacıyla RAPD tekniğini kullanarak yapmış oldukları moleküler destekli seleksiyonla seçtikleri bitkilerde homojenite elde etmek için ikinci ve üçüncü yıllarda kendilemişlerdir. Her yıl için yaptıkları RAPD analizleri sonucu elde ettikleri soy grafiklerinde hatlardaki farklılaşmanın yıldan yıla artış gösterdiğini, kendilemeye bağlı olarak hatlar içindeki tek bitkilerin genetik homojenitesindeki artışın hem grafiklerde hem de genetik uzaklıklardaki değişikliğin sebebi olduğunu bildirmişlerdir.

Echeverrigaray vd (2001) ticari *Thymus* çeşitlerinde genetik ve kimyasal ilişkiler arasındaki bağlantıyı belirlemek amacıyla altı çeşitte RAPD ve uçucu yağ analizi yapmışlardır. Uçucu yağ veriminin ve içeriğinin genetik yapı ve çevresel koşullar tarafından büyük ölçüde etkilendiğini bildirmişlerdir. Uçucu yağ içeriğinin, bitki

genomunun tamamına dağılmış çok sayıda gen tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Yapmış oldukları UPGMA analizi ile uçucu yağların kimyasal kompozisyon analizi sonucu çıkan dendogramın aynı sonuçları verdiğini bildirmişlerdir.

Bazina vd (2002) *Salvia officinalis* türüne ait seçilmiş klonlarda genetik ve kimyasal ilişkileri belirlemek üzere yapmış oldukları çalışmada RAPD markırları ve uçucu yağ kompozisyonları verileri sonucu elde edilen genetik uzaklıkların birbiri ile uyumluluk göstermediğini, farklı monoterpen ürünlerinin tür içerisinde terpen sentezi ile ilgili DNA dizilerinde oluşan küçük değişikliklerin farklılığa yol açtığını belirtmişlerdir. Trindade vd (2008) *Thymus caespitosus* türüne ait üç farklı lokaliteden topladıkları 31 örnekte uçucu yağ analizi ve RAPD markırları kullanarak moleküler analiz yapmışlar fakat moleküler veriler ile uçucu yağlar arasında doğrusal bir korelasyon bulamadıklarını bildirmişlerdir.

DAMD-PZR (Doğrudan Çoğaltılmış Minisatellit DNA) yöntemi bitki genomlarının her yerine dağılmış oldukları için minisatellit ve satellit DNA sekansları polimorfizmin belirlenmesinde büyük değere sahiptirler. Minisatellitler genotipler arasında tekrar ünitelerinin sayısındaki farklılıklara bağlı olarak yüksek seviyede allelik uzunluk farklılığı gösteren ökaryotik genomların ardışık tekrarlı bölgeleridir. Genotip minisatellitleri arasındaki allelik uzunluk farklılıkları büyük ölçüde bilgi verici genetik markırlardır. Bir genomun minisatellit bölgesinin PZR ortamında çoğaltılması minisatellit DNA'sını doğrudan çoğaltılması (DAMD-PZR) olarak bilinir. RAPD tekniğine benzemesine rağmen DAMD-PZR tekniğinde bitki genomlarının tekrarlı sekanslarca zengin DNA sekanslarından geliştirilen sekansa özgü primerler kullanılır. DAMD-PZR primerleri yüksek bağlanma sıcaklığına sahip oldukları için tekrarlanabilir özelliktedirler (Karaca vd 2008).

Karaca vd (2008) *Salvia* türlerinde ve PZR-RFLP tekniklerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada DAMD-PZR tekniğinin *Salvia* genetik çalışmalarında yararlı olduğunu PZR-RFLP tekniği kullanılarak bu cinse ait türlere özgü markır elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çınar vd (2009) tek lokasyondan toplanan *Sideritis erythrantha* var. *erythrantha*, *Sideritis pisidica*, *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*, *Sideritis stricta* ve iki lokasyondan toplanan *Sideritis arguta* ve *Sideritis perfoliata*

türlerinde minisatellit “URP-Universal Rice Primer” primeri ile DAMD-PZR tekniğini kullanarak yapmış oldukları çalışmada *Sideritis* türlerindeki genetik farklılığın geniş sınırlar içerdiğini, elde edilen sonuçların klasik sistematik ve morfolojik özelliklerle uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca DAMD-PZR tekniğinin *Sideritis* genotiplerinin tanımlanmasında etkili bir metot olduğunu belirtmişlerdir.

Ince vd (2009b) RAPD, DAMD-PZR, PZR-STS markır tekniklerini, Lamiaceae familyasında karşılaştırmak amacıyla bu familyada yer alan cinslere ait; *Phlomis lycia*, *Sideritis pisidica*, *Sideritis erythrantha*, *Origanum majorana*, *Origanum onites*, *Melisa officinalis*, *Rosmarinus officinalis* ve *Teucrium scordium* türlerinde uygulamışlar ve tekrarlanılabilirlik yönünden en iyi tekniğin PZR-STS olduğunu, bunu sırasıyla DAMD-PZR, RAPD tekniğinin izlediğini, polimorfizm bilgi içeriği yönündense en düşük değer, mitokondri ve kloroplast bölgelerine ait markırlar olması nedeniyle PZR-STS tekniğine ait olduğunu, amplikon sayısı yönünden RAPD tekniğinin en yüksek değere sahip olduğunu bunu DAMD-PZR, PZR-STS tekniklerinin izlediğini, PZR-STS tekniğinde düşük polimorfizm gözlenmesine rağmen Lamiaceae’nin bazı türlerinde doğal olarak oluşan türler arası hibritlerin tanımlanmasında son derece önemli değerde olabileceğini bildirmişlerdir.

PZR-RFLP (Restriksiyon Uzunluk Polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniği, PZR ve DNA kesim enzimleriyle birleştirilmiş bir tekniktir. PZR sonucu elde edilen monomorfik PZR amplikon bilgisine dayalı olarak PZR ürününün kesim enzimleri ile muamele edildikten sonra agaroz jelde yürütülmeleri sonucu meydana gelen uzunluk farklılıklarının belirlenmesi temeline dayanır (Bertea vd 2006). Belhassen vd (1993) üç farklı bölgedeki doğal popülasyondan topladıkları *Thymus vulgaris* türüne ait örneklerde yapmış oldukları mitokondriyel DNA’da PZR-RFLP analizi sonucunda popülasyonlar arasında ve popülasyon içinde yüksek farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi) tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiştir. Bu teknikte DNA birisi 6, diğeri 4 baz çifti taşıyan iki kesim enzimi (*EcoR* I/*Mse* I) tarafından kesilerek, kesilen

parçaların ucuna nükleotid dizilişi bilinen sentetik DNA'lar (adaptör) eklenmektedir. Bu sentetik DNA'nın nükleotid dizilişini de taşıyan başlatıcı DNA'ların kullanımı ile kısmen spesifik olan DNA çoğaltılmaktadır. Bu çoğaltma işlemi i) Her iki uçtan DNA kesim enzimlerinin tanıdığı diziden sonraki ilk nükleotide göre seçici çoğaltımın yapıldığı ön üretim, ii) Asıl üretimde ön üretimden elde edilen parçaların kullanımı ile kesim enzimi tanıma yerinden sonraki 2. ve 3. nükleotidler için seçici üretim olmak üzere iki aşamada gerçekleşmektedir. Bütün başlatıcılar sentetik uçların nükleotid dizisini de taşıdığı için üretim oldukça spesifik koşullar altında gerçekleşmiş olur. Üretilen parçacıklar bir baz uzunluğunu dahi ayırt edebilen poliakrilamid jelde yürütülerek farklılık gösteren parçacıklar tespit edilmiş olur (Vos vd 1995). AFLP tekniği i) RFLP'den hızlı ve sayıca daha fazla olması, ii) maliyet, iş gücü ve güvenilirlik açısından RAPD ve RFLP arasında olması, iii) çok sayıda aynı anda etkili bir şekilde tarama yapılabilmesinden dolayı parmak izi analizine uygunluğu, iv) genomik DNA'nın sekans bilgisinin bilinmesine gerek olmaması, v) polimorfizm oranının yüksekliği, vi) tekrarlanabilir özellikte olması gibi avantajlara sahiptir. Ancak, çoğunlukla baskın (dominant) markır vermesi pahalı olması ve farklı genetik haritalar arasında transferleri güç olması gibi dez avantajları da bulunmaktadır (Hodkinson vd 2000).

Ayanoğlu vd (2006) *Origanum onites* türündeki genetik farklılığın belirlenmesi amacıyla yaptığı AFLP analizi sonucunda farklı çevre ve yüksekliklerden toplanmış 42 *Origanum onites* ve bir *Origanum vulgare* türündeki benzerlik dağılımı veya gruplama ile yetiştirme bölgelerine bağlı bir genetik yakınlık ilişkisi bulunmadığını ifade etmişlerdir. Türler arasındaki gen akışının yabancı döllenmeye bağlı olarak yüksek olduğunu ve toplandıkları bölgelerden bağımsız türler arasında son derece yüksek bir genetik heterozigotiye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Azizi vd (2009) *Origanum vulgare* türüne ait 42 aksesyonda kullandıkları AFLP ve SAMPL markır sistemlerinin her ikisinin de alttürler arasındaki ilişki ve tür içi farklılığın belirlenmesi için uygun yöntemler olduğunu, SAMPL markır yönteminin alt tür farklılıklarını ortaya koymada AFLP den biraz daha etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Her iki yöntemin de morfolojik sınıflandırmayı doğrular nitelikte sonuçlar ortaya koyduğunu belirtmişlerdir.

STS (Dizini Etiketlenmiş Alanlar) tekniği, bir taraftan RFLP güvenilirliğini ve diğer taraftan PZR kolaylığını bir araya getiren bir tekniktir. Bu teknik ilk olarak nükleotid dizilişi bilinen az kopyalı RFLP problemlerinden yeterli uzunlukta (16-24 nükleotid) başlatıcı DNA'lar kullanılarak geliştirilmekle birlikte günümüzde EST dizileri kullanılarak oluşturulmaktadır (Ince vd 2009b). Bu yöntemin avantajları arasında i)  oğunlukla eşbaskın özellikte markır üretmesi, ii) RFLP'ye göre çok daha kolay, ucuz ve hızlı olması, iii) RAPD, DAMD-PZR, AFLP, SSR gibi az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması, iv) başlatıcı DNA'ların iyi seçilmesi şartı ile farklı haritalar arasında transferinin mümkün olması gelmektedir. STS tekniğinin dezavantajları ise i) ilgili RFLP probunun nükleik asit dizilişinin bilinmesini ve buna göre bir çift başlatıcı DNA geliştirilmesini gerektirmesi ve ii) polimorfizm oranı orta düzeyde oluşudur.

SSR veya Mikrosatellitler (Basit Dizin Tekrarları veya STMS) tekniği temel olarak ökaryotik genomlarda dağılım gösteren ardışık olarak tekrarlanan 2-6 nükleotidli gruplar halindeki  zel DNA kısımlarının özel primer çiftleri ile çoğaltılması ve tekrar sayısındaki farklılığın ortaya konması prensibine dayanan bir yöntemdir (Litt ve Luty 1989, Saiki vd 1988, Karaca vd 2002). SSR primerlerinin üretiminde genel olarak 3 farklı yaklaşım söz konusudur. Bunlar; i) genomik DNA klonlarının SSR problemleriyle hibridizasyonu yolu ile eldesi, ii) DNA veri bankalarında SSR'ların araştırılması ve iii) akraba bitki türlerinde geliştirilmiş olan SSR'ların kullanımıdır (Holton 2001, Maguire 2001, Rossetto 2001, Scott 2001). SSR ilk olarak insanlarda tanımlanmış (Weber ve May 1989) bitkiler aleminde ise ilk çalışmalar tarla bitkilerinde başlamış; soya (Akkaya vd 1992, Morgante ve Olivieri 1993),  eltik (Wu ve Tanksley 1993, Zhao ve Kochert 1993), arpa (Saghai Maroof vd 1994) ve buğday (Roder vd 1995) gibi bitkilerde SSR karakterizasyonları yapılmıştır. Bu tekniğin avantajları arasında i) oldukça polimorfik yapıda olması, ii) organizma genomunda çok sayıda olması ve aynı tarzda dağılım göstermesi, iii) az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması ve iv) yüksek düzeyde güvenilir oluşu gelmektedir (Scott vd 2000, Bantte ve Prasanna 2003, Trojanowska ve Bolibok 2004). Diğer taraftan yeni markır geliştirilmesi için genomik DNA k t phenelerinin tekrarlanan oligonükleotid içeren problemlerle hibridizasyon yolu ile bulunması, nükleotid dizilerinin belirlenmesi ve yan yana tekrarlanan yapıların başlangıç ve bitiş yerlerinden

özel başlatıcı DNA'lar geliştirilmesi gerekmekte ve bu da oldukça fazla iş gücü gerektiren ve yüksek maliyetli bir yöntem olmasına yol açmaktadır (Scott 2001). Ancak son yıllarda EST'lerin primer çiftlerinin geliştirilmesinde kullanılıyor olması bu sorunun belirli bir düzeyde çözümünü sağlamıştır.

Novak vd (2008) *Origanum vulgare*'ye ait EST kütüphanesindeki 2031 veriden ardışık tekrarları bulan program ile *in silico* ortamda 47 tekrarlı bölge elde etmişlerdir. Primer dizayn programı ile bu tekrarlı bölgelerden 15 tekrarda primer geliştirilemediğini, geri kalan tekrarlarınsa sadece 13'ünün *Origanum vulgare*'de polimorfizm gösterdiğini ve *Origanum* majarona'da değerlendirdiklerini bildirmişlerdir. Bu 13 mikrosatellit lokusunun *Origanum* cinsi için ilk SSR markır setini oluşturduğunu, bu markırların Lamiaceae familyasındaki kekik, nane, adaçayı gibi yakın akraba cinslerde de kullanılabileceği ve genetik kaynakların korunmasında, ıslah çalışmalarında, *Origanum* cinsinde ve yakın akraba cinslerde evrimsel çalışmalarda kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

SCAR (Dizin Karakterli Çoğaltılmış Bölgeler) tekniği yaygın olarak çoklu ve polimorfik ampikon üreten markır tekniklerinde (RAPD, AFLP) veya RFLP ve SSR yöntemlerinde edilen ampikonların DNA dizileri belirlendikten sonra bu diziler üzerinde yeni primer çiftleri dizayn edilerek gerçekleştirilen bir yöntemdir. Tekniği avantajları arasında i) genellikle kodominant markırlar üretmesi, ii) tekrarlanabilirliği dolayısıyla güvenilirliğinin yüksek oluşu ve iii) RFLP yöntemi ile karşılaştırıldığında ucuz ve hızlı olması gelmektedir. Olumsuz yönleri ise SCAR primer çiftlerinin elde edilmesinin pahalı oluşu ve SCAR markırlarının gen spesifik olması nedeniyle her bir organizmaya ve her bir gene veya genomik bölgeye özgü primer çiftleri gerektirmesidir.

Bu çalışmada ise Antalya il sınırları içerisinde doğal olarak yetişmekte olan 8 *Origanum* L. ve 9 *Thymus* L. taksonu toplanmış ve morfolojik özelliklerine göre betimlenmiş taksonlara ait kloroplast, mitokondri ve nükleer genom bilgilerinden yararlanılarak genetik ilişkilerin saptanması, çalışmada kullanılan taksonlar arasındaki genetik ilişkilerin genotip, lokasyon ve tür düzeyinde belirlenmesi, türlerin teşhisinde kullanılabilecek DNA markırları belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL ve METOT

Çalışma 2005-2010 yılları arasında gerçekleştirilmiş olup örneklerin toplanması 2006-2008, laboratuvar çalışmaları 2008-2009 ve analiz işlemleri 2009-2010 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Bitki örnekleri Antalya florasından (Gazipaşa, Alanya, Gündoğmuş, Akseki, Serik-Bozburun, Kemer, Merkez-Sakarpınar yaylası, Elmalı, Kumluca, Fasilis, Saklıkent, Korkuteli) toplanmış ve laboratuvar çalışmaları ise Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

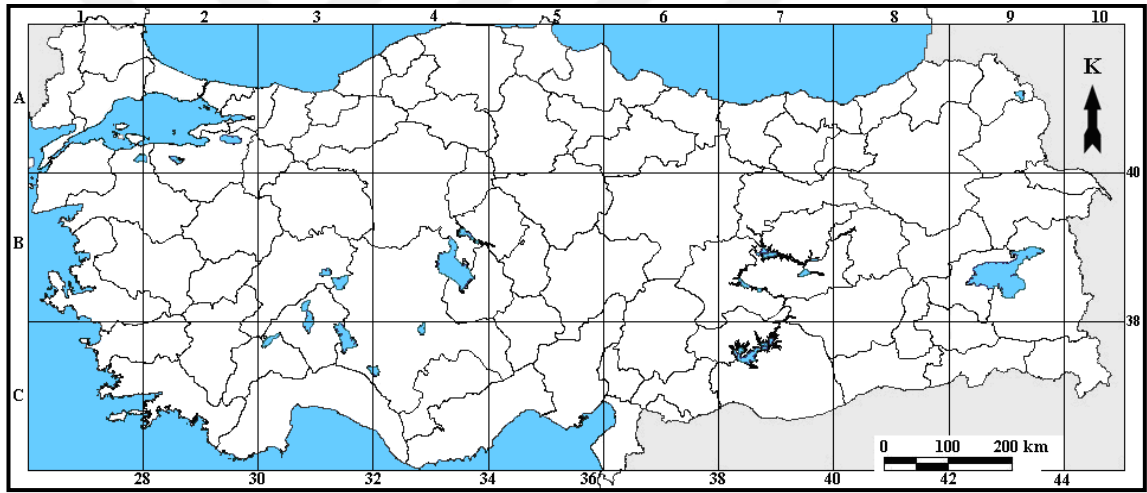
3.1. Materyal

Araştırmada *Thymus* cinsine ait 9 ve *Origanum* cinsine ait 8 olmak üzere toplam 17 takson kullanılmıştır. Bitki materyali 2007 yılının yaz döneminde Antalya florasından toplanmıştır. Toplam lokasyon sayısı *Thymus* L. için 17, *Origanum* L. için 21 olmak üzere toplam 38'dir. Her bir tür doğada var olduğu olanaklar dahilinde en az 3 lokasyondan toplanmış ve toplam 115 genotip kullanılmıştır.

Bitki materyali olarak 2 farklı cinsin (*Origanum* L. ve *Thymus* L.) toplanacağı lokasyonlar belirlenirken, elimizdeki herbaryum ve revizyon kayıtları göz önünde bulundurulmuştur. Geniş yayılış gösteren türlerde olabildiğince uzak lokasyonlar tercih edilirken, dar alanda yayılış gösteren türlerde yükseklik farkı ile varyasyon sağlanmaya çalışılmıştır. Lokasyonlardan alınan genotiplerde de yine olabildiğince farklı genotipler tercih edilmiştir. Örnekler toplanırken bitkilerin çiçeklenme dönemleri takip edilmiştir. Bitkilerin bazıları toplanma sırasında teşhis edilmiş, bazıları ise Akdeniz Üniversitesinde cins, tür ve bazı durumlarda alt tür ve varyete düzeyinde ayrılarak Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL ve Yrd. Doç. Dr. İ. Gökhan DENİZ'in destekleriyle tanımlanmıştır.

Doğadan toplanan taksonlara ait bilgiler Küresel Yer Belirleme Sistemi ya da [Küresel Konumlandırma Sistemi (Global Positioning System, GPS)] kullanılarak

ETREX marka GPS cihazı yardımıyla elde edilmiştir. Taksonlara ait GPS değerleri kayıt altına alınmıştır. Bu bilgiler yardımıyla her bir lokasyonun toplanmış olduğu konum belirlenebilmektedir. Doğadan toplanan ve kullanılan bitki materyalinin lokasyon bilgileri aşağıda Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de verilmiştir. P.H. Davis’e ait Türkiye Florası ("Flora of Turkey") adlı eserde türlerin yurdumuzdaki yayılışlarının belirtilmesinde Türkiye’nin enlem ve boylamlarının geçtiği çizgiler esas alınmak üzere ikişer derecelik karelere ayrılmıştır. Böylece yatay olarak A, B ve C olmak üzere üç sıra, dikey olarak 1-10 olmak üzere 10 sütun üzerinde toplanan 29 kare bulunmaktadır (Kılınç ve Kutbay 2007). P.H. Davis’in Türkiye’deki taksonların tanımlanmasında kullanmak üzere geliştirdiği kareleme sistemi Şekil 3.1’de verilmiştir. Bitkilere ait daha detaylı bilgiler ve fotoğraflar Ekler kısmında sunulmuştur.



Şekil 3.1. P.H. Davis’in Türkiye’de bulunan bitki taksonlarının coğrafi dağılımı için yaptığı kareleme sistemi

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Origanum* L. taksonlarına ait lokasyon ve GPS değerleri

Tür adı	Yayılış Alanı	Lokasyon	GPS Değeri	Yük
<i>O. saccatum</i> P. H. Davis	G. Anadolu Endemik C3-C4	Gündoğmuş	N36° 49'.313'' E32° 01'.367''	1008
<i>O. saccatum</i> P. H. Davis	G. Anadolu Endemik C3-C4	Alanya	N36° 33'.171'' E32° 18'.839''	1173
<i>O. saccatum</i> P. H. Davis	G. Anadolu Endemik C3-C4	Gazipaşa	N36° 23'.364'' E32° 24'.666''	281
<i>O. solymicum</i> P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Kemer	N36° 30'.542'' E30° 30'.153''	51
<i>O. solymicum</i> P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Kemer	N36° 35'.496'' E30° 27'.632''	471
<i>O. solymicum</i> P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Kemer	N36° 34'.035'' E30° 24'.805''	1149
<i>O. husnucanbaseri</i> H.Duman	Antalya Lokal-Endemik C4	Alanya	N36° 32'.764'' E32° 20'.896'	1359
<i>O. bilgeri</i> P. H. Davis	Antalya Endemik C4	Gündoğmuş	N36° 53'.059'' E32° 04'.950''	1545
<i>O. bilgeri</i> P. H. Davis	Antalya Endemik C4	Akseki	N36° 54'.643'' E31° 48'.680''	1115
<i>O. minutiflorum</i> O. Schwarz & P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Bozburun	N37° 21'.877'' E31° 03'.119''	1332
<i>O. minutiflorum</i> O. Schwarz & P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Sakarpınar	N36° 50'.824'' E30° 24'.824''	1788
<i>O. minutiflorum</i> O. Schwarz & P. H. Davis	Antalya Endemik C3	Kemer	N36° 34'.331'' E30° 24'.220''	1339
<i>O. majorana</i> L.	G.Anadolu Endemik C3-C4	Akseki	N36° 48'.438'' E31° 45'.822''	582
<i>O. majorana</i> L.	G.Anadolu Endemik C3-C4	Gazipaşa	N36° 26'.749'' E32° 28'.266''	1372
<i>O. majorana</i> L.	G.Anadolu Endemik C3-C4	Alanya	N36° 31'.493'' E32° 13'.247''	1041
<i>O. onites</i> L.	B. ve G. Anadolu A1- B1- B2- C1-C2 -C3-C5	Elmalı	N36° 35'.276'' E29° 57'.632''	1037
<i>O. onites</i> L.	B. ve G. Anadolu A1- B1- B2- C1-C2 -C3-C5	Faselis	N36° 31'.537'' E30° 32''.866''	-7
<i>O. onites</i> L.	B. ve G. Anadolu A1- B1- B2- C1-C2 -C3-C5	Kumluca	N36° 28''.621'' E30° 20'.310''	521
<i>O. vulgare</i> L. subsp <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart	K ve G Anadolu A1-A2-B1-B2-C1-C2-C4-C5	Gazipaşa	N36° 30'.559'' E32° 27'.204''	1468
<i>O. vulgare</i> L. subsp <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart	K ve G Anadolu A1-A2-B1-B2-C1-C2-C4-C5	Kemer	N36° 33'.313'' E30° 21'.084''	1053
<i>O. vulgare</i> L. subsp <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart	K ve G Anadolu A1-A2-B1-B2-C1-C2-C4-C5	Alanya	N36° 34'.461'' E32° 21'.837''	1317

*Yük: Deniz seviyesinden yükseklik olup metre olarak verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan *Thymus* L. taksonlarına ait lokasyon ve GPS değerleri

Tür adı	Yayılış Alanı	Lokasyon	GPS Değeri	Yük
<i>T. cilicicus</i> Boiss. & Bal.	GB. ve G. Anadolu C2-C3 C4-C5-C6	Alanya	N36° 34'.993'' E32° 21'.033''	1401
<i>T. cilicicus</i> Boiss. & Bal.	GB. ve G. Anadolu C2-C3 C4-C5-C6	Gazipaşa	N36° 30'.067'' E32° 27'.363''	1386
<i>T. cilicicus</i> Boiss. & Bal.	GB. ve G. Anadolu C2-C3-C4-C5-C6	Gündoğmuş	N36° 52'.019'' E32° 04'.706''	1463
<i>T. revolutus</i> Celak.	G Anadolu Endemik C3-C4.	Saklıkent	N36° 53'.847'' E30° 27'.644''	733
<i>T. revolutus</i> Celak.	G Anadolu Endemik C3-C4.	Kemer	N36° 30'.286'' E30° 23'.125''	1439
<i>T. cherlerioides</i> Vis. var. <i>isauricus</i> Jalas	G.Anadolu Endemik B1- C3-C4	Gündoğmuş	N36° 52'.141'' E32°09'.017''	1523
<i>T. leucotrichus</i> Hal. var. <i>austroanatolicus</i> Jalas	G. Anadolu A6-A7-A8-B5-B6- B8-C5-C6-C7	Gazipaşa	N36° 24'.866'' E32° 32'.519''	2131
<i>T. zygoides</i> Griseb. var. <i>lycaonicus</i> (Celak) Ronniger	Trakya, B. , O. ve GB. Anadolu A1-A2-B1-B2-B3-C1-C2-C3-C4	Akseki	N37° 07'.135'' E31° 47'.153''	1279
<i>T. zygoides</i> Griseb. var. <i>lycaonicus</i> (Celak) Ronniger	Trakya, B. , O. ve GB. Anadolu A1-A2-B1-B2-B3-C1-C2-C3-C4	Elmalı	N36° 49'.016'' E29° 42'.074''	1493
<i>T. zygoides</i> Griseb. var. <i>lycaonicus</i> (Celak) Ronniger	Trakya, B. , O. ve GB. Anadolu A1-A2-B1-B2-B3-C1-C2-C3-C4	Saklıkent	N36° 43'.837'' E30° 21'.771''	1613
<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> L.	K. Türkiye, KD. ,B., G. ve Karasal Anadolu A2-A4-A5-A6-A8-A9-B1-B2-B3-B4-B5-B6-B7-B8-C2-C3-C4-C5-C6	Korkuteli	N36° 56'.736'' E30° 07'.347''	1346
<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> L.	K. Türkiye, KD. ,B., G. ve Karasal Anadolu A2-A4-A5-A6-A8-A9-B1-B2-B3-B4-B5-B6-B7-B8-C2-C3-C4 C5-C6	Elmalı	N36° 43'.581'' E29° 43'.531''	1599
<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> L.	K. Türkiye, KD. ,B. , G. ve Karasal Anadolu A2-A4-A5-A6-A8-A9-B1-B2-B3-B4-B5-B6-B7-B8-C2-C3-C4 C5-C6	Beydağları	N36° 51'.685'' E30° 15'.535''	2000
<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>davisanus</i> Ronniger	GB. Anadolu Endemik A2-A4-A5-A6-A8-A9-B1-B2-B3-B4-B5-B6-B7-B8-C2-C3-C4-C5-C6	Saklıkent	N36° 49'.921'' E30° 19'.600''	2023
<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>rosulans</i> (Borbas) Jalas	KD. B. ve G. Anadolu A4-A6-A8-A9-B2-B3-B4-B5-B6-B7-B8-C2-C4-C5-C6	Gazipaşa	N36° 25'.167'' E32° 33'.113''	2005
<i>T. longicaulis</i> C. Presl subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> (Boiss. & Heldr. ex Reichb. fil.)	KB. ve B. Anadolu A2-B1-B2-C1-C2	Bozburun	N37° 20'.737'' E31° 01'.730''	1476
<i>T. longicaulis</i> C. Presl subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> (Boiss. & Heldr. ex Reichb. fil.)	KB. ve B. Anadolu A2-B1-B2-C1-C2	Elmalı	N36° 35'.856'' E30° 02'.627''	1720

*Yük: Deniz seviyesinden yükseklik olup metre olarak verilmiştir.

3.2. Metot

DNA ekstraksiyon çalışmalarında kullanılmak üzere arazi koşullarından toplanan *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerine ait bitki materyallerinden DNA eldesi zorluğu göz önünde bulundurularak yeterli miktarlarda ve taze yapraklı örneklerin toplanmasına özen gösterilerek alınan örnekler 50 ml'lik tüplere konulmuş ve içinde buz bulunan araç dolabı içinde taşınarak laboratuvar ortamına getirilmiştir.

Bazı örneklerin belirli lokasyonlarda çok az düzeyde ve az miktarda bulunmaları nedeniyle, bunlardan bol örnek toplanmasına özen gösterilmiş ve bu nedenle de belirli lokasyonlara 3 ya da 4 kez ziyaretler yapılmıştır. Doğadan toplanan ve DNA ekstraksiyonunda kullanılacak olan bitki örnekleri derin dondurucuda DNA ekstraksiyon işlemine kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.1. Taksonların teşhisi

Çalışmada kullanılmak üzere doğadan toplanmış olan *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinsine ait bitkiler morfolojik karakterleri temel alınarak teşhis edilmiştir. Bu nedenle bitkilerin teşhislerinde "Flora of Turkey" (Türkiye Florası) teşhis anahtarı kullanılmıştır (Davis 1982). Taksonların teşhisi Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL ve Yrd. Doç. Dr. İ. Gökhan DENİZ'in katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. DNA ekstraksiyonu

3.2.2.1. DNA çalışmalarında kullanılan çözeltiler

TRIS-HCl 2 M pH: 7.5 ve 8.0 100 ml çözelti 24.22 g TRIS (Amresco, Propure MW: 121.14 g/mol CAS- No = 77-86-1) tartılarak 80 ml distile su içinde çözüldükten sonra son hacim 100 ml olacak şekilde HCl (hidroklorik asit) ile pH: 7.5 veya 8.0' a ayarlanarak hazırlanmış ve çözelti 121°C'de 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Na₂EDTA ("Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate") 0.5 M pH:7.5 ve 8.0 100 ml çözelti hazırlamak için 18.61 g Na₂EDTA (Sigma-Aldrich MW: 372.2

g/mol CAS-No = 6381-92-6) ve 1.6 g NaOH (sodyum hidroksit) tartılmış ve 80 ml distile su ile çözülerek son hacim 100 ml olacak şekilde pH: 7.5 veya 8.0'e ayarlanmıştır. Bu çözelti 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Sodyum asetat ("Sodium Acetate Anhydrous- NaOAc") 3 M pH: 5.2 500 ml çözelti hazırlamak için 123.1 g NaOAc (Amresco, MW: 82.03 g/mol CAS -No = 127-09-3) tartılarak 300 ml distile su içinde çözülmüştür. Glasiyel asetik asit (Merck Chemicals Acetic acid (glacial) 100% CAS NO-No = 64-19-7) ile pH: 5.2'ye ayarlanıp, hacim 500 ml'ye tamamlandıktan sonra 121 °C'de 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Sodyum klorür ("Sodium chloride NaCl") 5 M 1000 ml çözelti için 292.2 g (Sigma-Aldrich MW: 58.44 g/mol CAS -No = 7647-14-5) tartılarak 900 ml distile su içinde çözüldükten sonra hacim 1000 ml ye tamamlanmıştır. NaCl çözeltisi 121°C'de 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

TRIS-EDTA (TE) 100 ml pH: 7.5 ve 8.0 çözeltisi hazırlamak, için 2 M pH: 7.5 veya 8.0 stok çözeltisinden 100 ml çözeltide 10 mM TRIS-HCl olacak şekilde, 0.5 ml ve 0.5 M pH: 7.5 veya 8.0 Na₂EDTA stok çözeltisinden 1 mM Na₂EDTA olacak şekilde 0.2 ml alınarak hacim 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

20 X TRIS Borate EDTA (TBE) 1 litre çözelti hazırlamak için 216 g TRIS ve 110 g "Boric acid" (Amresco Propure Boric Acide MW: 61.83 g/mol CAS -No: 10043-35-3) tartılarak 80 ml 0.5 M EDTA pH: 8.0 ve 600 ml distile su içinde çözülmüş ve son hacim 1000 ml'ye tamamlanmış ve çözelti 121°C'de 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

% 10 CTAB ("Hexadecyltrimethylammonium bromide") 100 ml çözelti için 10 g CTAB (Sigma-Aldrich MW: 364.45 g/mol CAS -No = 57-09-0) tartılarak 80 ml distile su eklenmiş ve su banyosunda ısıtılarak çözüldürdükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

"Ethidium bromide" (EtBr) 10 mg/ml stok çözeltisi hazırlamak için 1 g EtBr (Sigma-Aldrich MW: 394.31 g/mol CAS -No = 1239-45-8) tartılarak 100 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

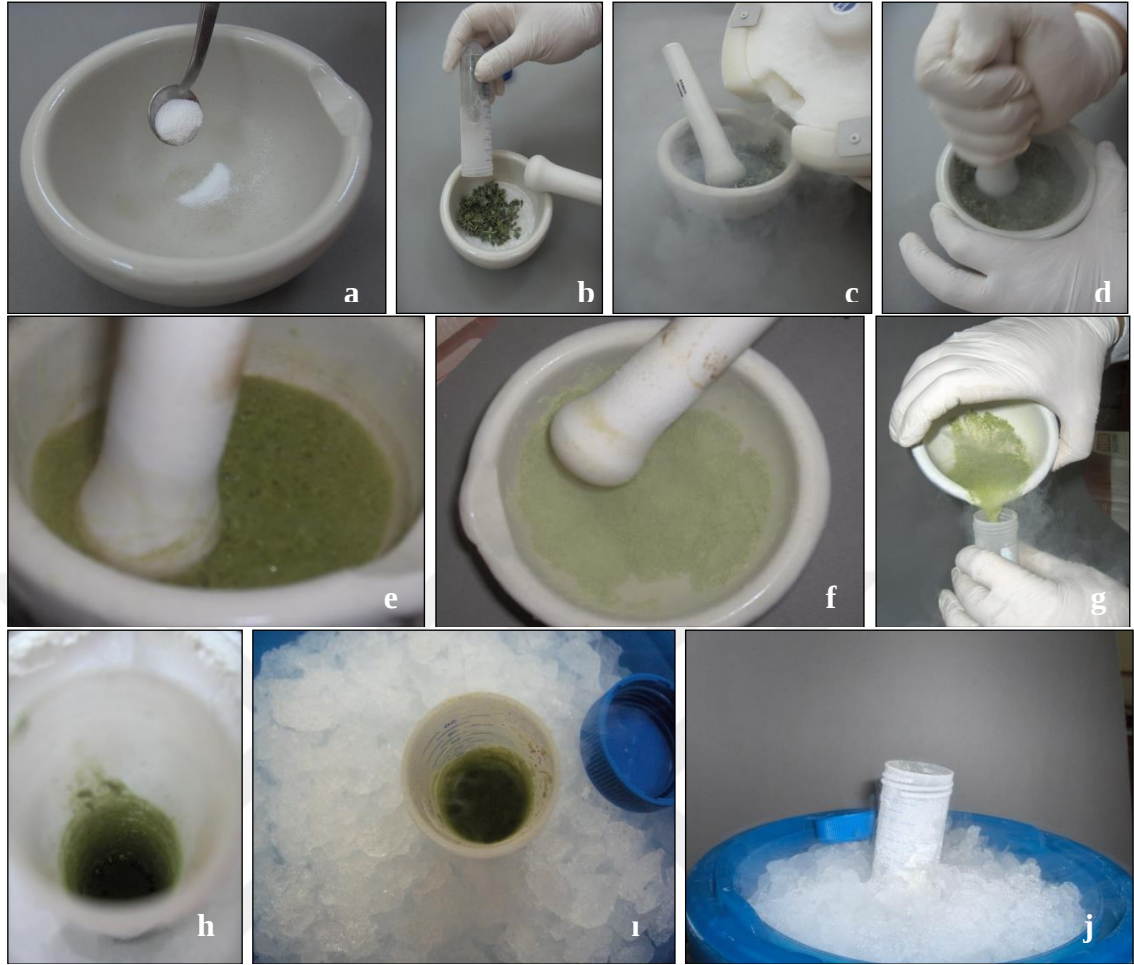
RNase A (10 mg/ml) 1 ml stok hazırlamak için 10 mg RNase A (Sigma-Aldrich Ribonuclease A - RNase A CAS -No = 9001-99-4) tartılmış ve 0.8 ml TE (10 mM TRIS HCl pH: 7.5, 1 mM EDTA pH: 7.5) çözülerek hacim 1 ml' ye tamamlanmıştır.

100 ml DNA ekstraksiyon çözeltisi için 10 ml %10 CTAB çözeltisi, 1 g toz PVP (Amresco, Polyvinylpyrrolidone - CAS -No = 9003-39-8), 5 ml 2 M TRIS-HCl, 4 ml 0.5 M EDTA, 28 ml 5 M NaCl eklenmiş, ısıtılarak çözülmüş ve çözelti oda sıcaklığına ulaştığında 300 µl BME (Amresco β-mercaptoethanol - CAS -No = 60-24-2) eklenerek son hacim 100 ml ye tamamlanmıştır. Bu durumda final çözelti konsantrasyonları % 1 CTAB (w/v), 100 mM TRIS-HCl, (pH 8.0), 20 mM Na₂EDTA, 1.4 M NaCl, % 1 PVP (w/v) ve %0.3 BME olarak hazırlanmıştır.

Kloroform-İzoamil alkol 24:1 h/h 100 ml hacimde 24 ml kloroform ve 1 ml izoamil alkol hacmi oranına göre 96 ml kloroform/ 4 ml izoamil alkol olacak şekilde hazırlanmıştır. Kullanılan kloroform (Chloroform MW: 119.38 g/mol CAS NO=67-66-3) ve izoamil alkol (Isoamyl Alcohol MW: 88.15 g/mol CAS NO=123-51-3) Amresco firması ürünüdür. İzopropil alkol ise bu çalışmada kullanılan diğer kimyasallarda olduğu gibi moleküler biyoloji çalışmalarına uygun saflıktadır (Sigma-Aldrich-2 Propanol-Isopropanol, CAS -No67-63-0 ≥99%).

3.2.2.2. DNA izolasyonu protokolü

Çalışmada kullanılan taksonlara ait DNA izolasyonu için Doyle and Doyle (1987) yöntemi değiştirilerek kullanılmıştır. 2 aşamadan oluşan izolasyonun yöntemi aşağıda ayrıntıları ile verilmiştir. Birinci aşamada *Origanum* L ve *Thymus* L. cinslerine ait -20°C de muhafaza edilmiş olan dondurulmuş yaprak dokusundan her bir örnek için 500 mg tartılarak içerisinde 50 mg PVPP bulunan otoklavlanmış porselen havanlarda sıvı azot ve havan eli yardımıyla toz hale gelene kadar ezilmiştir (Şekil 3.2).



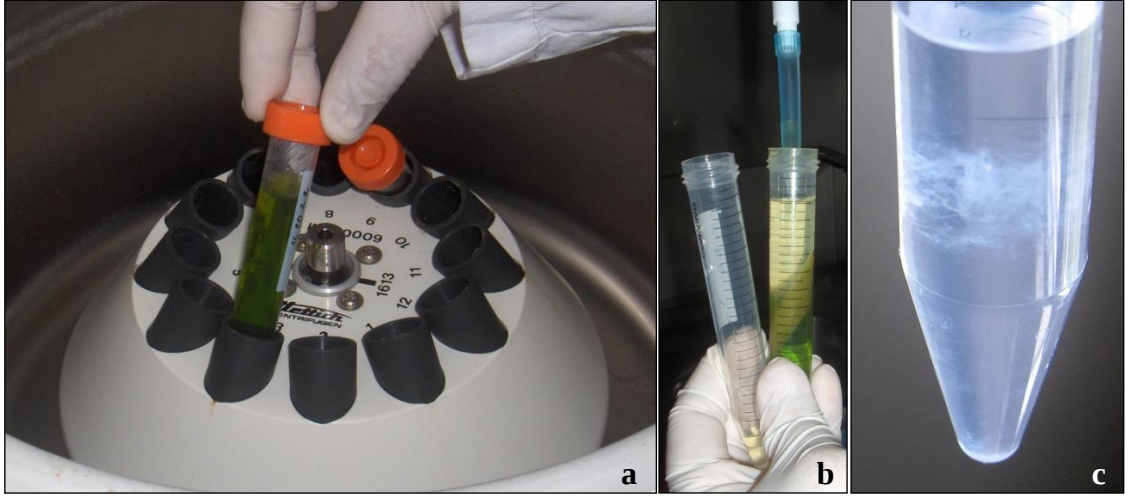
Şekil 3.2. Bitki doku örneklerinin (yaprak) sıvı azot yardımı ile ezilmesinin aşamaları;
a: porselen havana oksidasyonu engellemek için PVPP eklenmiştir, b: -20°C de muhafaza edilen dondurulmuş yaprak dokusu eklenmiştir, c: sıvı azot eklenmiştir, d, e ve f: havana, bittikçe sıvı azot eklenerek unlu bir yapı elde edilene kadar ezilmiştir, g: sıvı azot yardımı ile ezilen bitki dokusu tüpe alınmıştır, h, i, j: tüpün içindeki sıvı azot iyice uçana kadar, buz üzerinde bekletilen örnek tüpleri daha sonra ağzı iyice kapatılarak -20°C de muhafaza edilmiştir

Sıvı azot bitki karışımı otoklavlanmış, 15 ml'lik santrifüj tüpüne konularak gaz tamamen buharlaşana kadar veya 10 dakika buz üzerinde bırakılmıştır. Ezilmiş yaprak dokusu üzerine 1.5 ml izolasyon çözeltisi eklenerek, oluşan doku-çözelti karışımının 1 ml'si, 2 ml'lik polypropylene santrifüj tüplerine alınmış ve üzerine 3 µl β-merkaptoethanol eklenmiş ve 3-5 dakika vorteks cihazı yardımıyla dokuların çözelti içerisinde iyi bir şekilde dağılmaları sağlanmıştır. İzolasyon tampon çözeltisi içinde bulunan örnekler 65°C su banyosunda 20 dk ara ile karıştırılarak 1-2 saat beklemeye bırakılmıştır.

Bu süre sonunda su banyosundan çıkarılan örneklerle 1 ml CIA eklenip 50-100 kez çalkalanarak 13770 xg hızda, 10 dakika santrifüj edilmiştir. Döngü sonunda 3 katman meydana gelmiş ve en üstteki sıvı katman (süpernatant) 2 ml'lik temiz bir polypropylene santrifüj tüpüne alınarak eşit hacimde izopropil alkol (-20°C) ilavesiyle DNA'nın çökmesi sağlanmıştır. 13770 xg hızda, 5 dakika santrifüjlenir ve içerisindeki izopropil alkol dökülmüştür. Alkol tamamen uçuncaya kadar tüp kurumaya bırakılmıştır. Kurumanın ardından, tüpün dibinde kalan DNA, 0.5 ml TE (pH: 8.0) içerisinde çözülmüştür.

DNA ekstraksiyon protokolünün ikinci aşamasında TE (pH: 8.0) çözeltisi içerisine tekrar 0.5 ml, DNA izolasyon çözeltisi eklenmiş ve 65°C su banyosunda 10 dk ara ile karıştırılarak, 30 dakika beklemeye bırakılmıştır. Su banyosundan alınan örneklerin içerisine 0.5 ml CIA eklenmiştir ve 50-100 kez çalkalanarak 20370 xg hızda 5 dakika santrifüjlenmiştir. DNA içeren üst faz 2 ml'lik temiz bir polypropylene santrifüj tüpüne alınmıştır, 1 ml izopropil alkol eklenerek DNA çöktürülmüştür. 13770 xg hızda, 5 dakika santrifüjlenmiş ve izopropil alkol dökülerek tüp kurumaya bırakılmıştır. Kurumanın ardından, tüpün dibinde kalan DNA, 0.5 ml TE (pH: 7.5) içerisinde çözülmüştür.

Çözeltiye 5 µl (1 mg/ml stoktan) *RN*az A eklenerek 37 °C'de su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda su banyosundan çıkarılan örneklerle 50 µl NaOAc (3 M, pH: 5.2) 1 ml %100 Etanol eklenerek 13770 xg hızda, 5 dakika santrifüjlenerek alkol dökülmüş ve alkol tamamen uçuncaya kadar tüp kurumaya bırakılmıştır. Kurumanın ardından, tüpün dibinde kalan DNA, 0.5 ml TE (pH: 8.0) içerisinde çözülmüştür. Kuruttuktan sonra tüpteki DNA önce 0.7 ml, % 70'lik soğuk (-20 °C) etil alkolle yıkanarak 20370 xg hızda, 5 dakika santrifüjlenmiştir. Alkol dökülerek ikinci kez 0.7 ml, %96'lık soğuk (-20 °C) etil alkol eklenmiş ve 20370 xg hızda, 5 dakika santrifüjlenmiştir. Alkol dökülerek tüp kurumaya bırakılmıştır. Alkol tamamen uçtuktan sonra, DNA 200-300 µl TE (pH: 8.0) içerisinde çözüldürülerek elde edilen DNA örnekleri -20 °C'de saklanmıştır. DNA ekstraksiyonunun bazı aşamaları büyük skalada Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. DNA ekstraksiyonuna ait bazı fotoğraflar; a: β -mercaptoethanol, izolasyon tampon çözeltisi, kloroform: izoamil alkol içerisindeki örnekler santrifüj edildikten sonra b: santrifüjden sonra nükleik asit içeren üst faz yeni bir tüpe alınırken, c: izopropil alkol eklenerek yoğunlaştırılan ve görülebilen DNA

3.2.3. DNA kalitesinin ve miktarının belirlenmesi

İzolasyonu tamamlanmış olan örnekler için DNA'ların kalitesi ve miktarının kontrol edilmesi, çalışmada işlemlerin optimizasyonu ve standartlaştırılması için gereklidir. Bunun için hem agaroz jel elektroforesis, hem de spektrofotometrik analiz yöntemleri kullanılmıştır.

Agaroz jel elektroforesis yöntemiyle öncelikle DNA'ların varlığı, genomik DNA moleküllerinin tek parça olup olmadıklarının, saflığı (RNA kontaminasyonu, polisakkarit varlığı) yüksek moleküler kütledeki DNA'nın varlığı teyit edilmiştir. Bu amaçla %1 agaroz jel hazırlanmıştır. 20X TBE çözeltisinden hazırlanan 1X TBE çözeltisi jelin hazırlanması ve yürütülmesinde kullanılmıştır.

Spektrofotometrik yöntemde örneklerinden 20 μ l alınarak üzerine 480 μ l saf su ilave edilerek 50 kat seyreltilmiş ve daha sonra spektrofotometrede 260 nm (A_{260}), 280 nm (A_{280}) ve 230 nm (A_{230}) dalga boylarındaki absorpsiyon değerlerine bakılarak reaksiyon karışımında bulunması gereken çift zincirli DNA konsantrasyonları Maniatis vd (1982)'ne göre DNA miktarı (μ g/ml) = $A_{260} \times 50 \times$ seyreltme değeri olarak hesaplanmıştır. Formülde 50 DNA'nın var oluş katsayısını göstermektedir.

3.3. PZR Tabanlı DNA Analizleri

Çalışmada Px2 termal-döngü (Thermo Hybaid) cihazı kullanılmıştır. Her PZR profili için geçerli ortak protokol uygulanmıştır. Bunun için 94°C, 3 dakika bekletilen tüpler önce 10 döngülük Ön-PZR işlemine tabi tutulmuştur. Ön-PZR profilinin primer bağlanma sıcaklığı döngü başına 0.5°C azaltılarak gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan bileşenler Çizelge 3.3, 3.4 ve 3.5 primer veya primer çiftlerine ait DNA dizileri ise Çizelge 3.6, 3.7, 3.8 ve 3.9’da verilmiştir.

i) DNA: Tüm örnekler için ait DNA’lar 10 ng/μl olacak şekilde TE (pH: 8.0) tampon çözeltisi ile seyreltilmiştir. Reaksiyonda her tüp için 8.5 μl DNA (85 ng) kullanılmıştır.

ii) Primer: Çalışmada *Origanum* L. örnekleri için 21 EST-SSR primeri kullanılırken *Thymus* L örnekleri için ise 8 organel primer çifti, 10 kloroplast SSR primer çifti ve 19 minisatellit primeri kullanılmıştır.

iii) Deoksiribonükleotрифосfat karışımı (dNTP: dATP, dTTP, dGTP, dCTP): Çalışmada 10 mM konsantrasyonda dNTP karışımından 25 μl toplam reaksiyon hacmi için konsantrasyonu 0.28 mM olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 0.7 μl kullanılmıştır.

iv) 10X PZR tamponu: Çalışmada 10X stok çözeltisinden 25 μl toplam reaksiyon hacmi için konsantrasyonu 1.2X olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 3 μl kullanılmıştır. Bioron ve Vivantis firmalarına ait iki farklı 10X PZR tamponu kullanılmıştır.

v) MgCl₂: Bioron ve Vivantis firmalarına ait iki farklı MgCl₂ stok çözeltisi kullanılmıştır. Vivantis marka 50 mM konsantrasyonda MgCl₂ stok çözeltisinden 25 μl toplam reaksiyon hacmi için konsantrasyonu 3 mM olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 1.5 μl kullanılmıştır. Bioron marka 25 mM konsantrasyonda MgCl₂ stok çözeltisinden 25 μl toplam reaksiyon hacmi için konsantrasyonu 3 mM olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 3 μl kullanılmıştır.

vi) *Taq* DNA Polimeraz Enzimi: Çalışmada 5u/μl konsantrasyonda *Taq* DNA polimeraz enzim solüsyonundan toplam 25 μl reaksiyon hacmi için konsantrasyonu 2.05 ünite olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 0.41 μl kullanılmıştır. Bioron ve Vivantis firmalarına ait iki farklı *Taq* DNA polimeraz enzim solüsyonu kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. SSR PZR bileşenleri (Bioron)

Bileşenler	Miktar (μl)	Final Konsantrasyon
Su	5.25	-
Primer çifti	1.25	0.5 μM (her biri)
Genomik DNA	8.50	85 ng
Su	5.89	-
10X (100 mM TRIS-HCl (pH 8.0), 500 mM KCl, 15 mM MgCl ₂ , % 0.01 gelalin)	3.00	1.2 X
MgCl ₂ (25 mM)	3.00	3 mM
dNTP	0.70	0.28 mM
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	0.41	2.05 ünite
Toplam hacim	25.00	

Çizelge 3.4. SSR PZR bileşenleri (Vivantis)

Bileşenleri	Miktar (μl)	Final Konsantrasyon
Su	5.25	-
Primer çifti	1.25	0.5 μM (her biri)
Genomik DNA	8.50	85 ng
Su	4.39	-
10X (100 mM TRIS-HCl (20°C'de pH 9.1), 50 mM KCl, % MgCl ₂ (50 mM)	3.00	1.2 X
dNTP	1.50	3 mM
dNTP	0.70	0.28 mM
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	0.41	2.05 ünite
Toplam hacim	25.00	

Çizelge 3.5. DAMD-PZR bileşenleri

Bileşenleri	Miktar (μl)	Final Konsantrasyon
Su	3.00	-
Primer çifti	3.50	2.8 μM
Genomik DNA	8.50	85 ng
Su	4.39	-
10X (100 mM TRIS-HCl (pH 8.0), 500 mM KCl, 15 mM MgCl ₂	3.00	3 mM
dNTP	1.50	3 mM
dNTP	0.70	0.28 mM
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	0.41	2.05 ünite
Toplam miktar	25.00	

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan *Origanum* EST-SSR primer çiftleri

Primer adı	5'→3' İleri/Geri Sekansları
SSR-OR-201-F	TTCTTTTCATCAACCAACCTAGCTAC
SSR-OR-201-R	GCCATGAGAAAAGCAGATAGGAG
SSR-OR-202-F	AAGTGAAGTAACGCTTCCATGAGAG
SSR-OR-202-R	CCCGAGTACAAAAGAGCTACAGATG
SSR-OR-209-F	TTGAAGCATTGTTGGAGGTAGATG
SSR-OR-209-R	TCCCAACTAGGGAGAAATGTGC
SSR-OR-210-F	TTTGCTCCGACATCTTCAACC
SSR-OR-210-R	AGCCTGCTGTGTTTGGATCAG
SSR-OR-212-F	GCCCCTGCAGTGACTCCTAC
SSR-OR-212-R	AAAAAGGCTTCGGACTCGATC
SSR-OR-213-F	GAGAGAATCCAAGCCTCCGC
SSR-OR-213-R	TGAAGGAGTCCGATGTTGACG
SSR-OR-217-F	TTTGCGCAGATCTCAAGTGC
SSR-OR-217-R	AAGCGGTGACTGACGGAGAC
SSR-OR-218-F	GGATGATGCTGAGTTGGTGATAAG
SSR-OR-218-R	CCTGACACGCCACAAAAGTG
SSR-OR-219-F	GGGCATTAAAGCTAAGGAGCG
SSR-OR-219-R	CAGCCGATCACCTGTCCTTC
SSR-OR-221-F	CACACGCACTGGTGAGGTG
SSR-OR-221-R	TTCCCGCAGATCTCCAGAAC
SSR-OR-227F	TCAGAAACAATGAAGGCCGC
SSR-OR-227R	CCGTACAGGTCAAACACCGG
SSR-OR-231F	ACCCCTGTATACGTTGGACC
SSR-OR-231R	GCATCAAAAAGGGTTCGGAC
SSR-OR-238F	AGCCAAACTCGCTGCTTCTG
SSR-OR-238R	CAAGGTAAAAAGGGTAATAGACGTGG
SSR-OR-240F	GCCCAAGGACATCCAACCTG
SSR-OR-240R	CAACTGAACACCTCCCACAATG
SSR-OR-244F	TCAAGGGTAGAGCTGCTGCAG
SSR-OR-244R	GCTTTACGGAGGAAGAATGGG
SSR-OR-252F	ATGCCCAGGGACATCCAAC
SSR-OR-252R	ACTGAACACCTCCCCACAATG
SSR-OR-266F	AAGATCGAAGGCATCGATCG
SSR-OR-266R	GGTGAAAAATGAATACAGTGGGC
SSR-OR-267F	TCTTCATCAAGTTCAATAATGCTGTG
SSR-OR-267R	GATTCAGATAGTTGCATCGAGGTTAG
SSR-OR-270F	TCCCATCATTTTCCTCCGTC
SSR-OR-270R	CCCCACTACAGCAGAAACCG
SSR-OR-277F	TGAAGTCAGTTTGGATGATGGTG
SSR-OR-277R	GTCACGTATGGAATGCACGG
SSR-OR-281F	GAAGTTCGCCGAGGCTCTC
SSR-OR-281R	CAAAGCACAGAAAATACAATAGCAC

Çizelge 3.7. *Thymus L.*'de kullanılan kloroplast (CpSSRLP) genoma özgü primer çiftleri

Primer adı	5'→3' Geri/İleri Sekansları	Motif tipi ve sayısı	Lokasyon
CCMP1R	CAGGTAAACTTCTCAACGGA	(TA) ₁₀	trnK intron
CCMP1F	CCGAAGTCAAAAGAGCGATT		
CCMP2R	GATCCCGGACGTAATCCTG	(A) ₁₁	5' trnS
CCMP2F	ATCGTACCGAGGGTTCGAAT		
CCMP3R	CAGACCAAAAGCTGACATAG	(T) ₁₁	trnG intron
CCMP3F	GTTTCATTTCGGCTCCTTTAT		
CCMP4R	AATGCTGAATCGATGACCTA	(T) ₁₃	atpF intron
CCMP4F	CCAAAATATTTTCGGAGGACTCT		
CCMP5R	TGTTCCAATATCTTCTTGTCATTT	(C) ₇ (T) ₁₀	3' rps2
CCMP5F	AGGTTCCATCGGAACAATTAT		
CCMP6R	CGATGCATATGTAGAAAGCC	(T) ₅ C(T) ₁₇	ORF 77-82
CCMP6F	CATTACGTGCGACTATCTCC		
CCMP7R	CAACATATAACCACTGTCAAG	(A) ₁₃	atpB-rbcL
CCMP7F	ACATCATTATTGTATACTCTTTC		
CCMP8R	TTGGCTACTCTAACCTTCCC	(T) ₆ C(T) ₁₄	rpl20-rps12
CCMP8F	TTCTTTCTTATTTTCGAGGAA		
CCMP9R	GGATTTGTACATATAGGACA	(T) ₁₁	ORF 74b-psbB
CCMP9F	CTCAACTCTAAGAAATACTTG		
CCMP10R	TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA	(T) ₁₄	rpl2-rps19
CCMP10F	TTCGTCGCCGTAGTAAATAG		

Çizelge 3.8. *Thymus L.*'de kullanılan SCAR/CAPS primer çiftleri

Gen	Genomu	5→3 İleri/Geri Sekansları
nad 1B F	Mitokondri	GCATTACGATCTGCAGCTCA
nad 1C R	Mitokondri	GGAGCTCGATTAGTTTCTGC
ucpD F	Mitokondri	GGGGATAGAGGGACTTGAAC
ucpC R	Mitokondri	CGAAATCGGTAGACGCTACG
trnS F	Mitokondri	GGTTCGAATCCCTCTCTCTC
psbC R	Mitokondri	GGTCGTGACCAAGAAACCAC
trnH-psbA F	Kloroplast	TGATCCACTTGGCTACATCCGCC
trnH-psbA R	Kloroplast	GCTAACCTTGGTATGGAAGT
cp-trnS-psbC F	Kloroplast	GGTTCGAATCCCTCTCTCTC
cp-trnS-psbC R	Kloroplast	GGTCGTGACCAAGAAACCAC
PsbA F	Kloroplast	TACGTTTCRTGCATAACTTCC
PsbA R	Kloroplast	CTTCTTCCTAGCTGCTTGGCCTGT
16SF	Kloroplast	ACGGGTGAGTAACGCGTAAG
16SR	Kloroplast	CTCCAGTACGGCYACCTTG
PsbB1 F	Kloroplast	GGCCCAACCAGCAACCAGAG
PsbB2 R	Kloroplast	ATGGGGCGGTTGGAGTATCACA

Çizelge 3.9. *Thymus L.*'de kullanılan DAMD-PZR primerler

Primer	5'→3' İleri/Geri Sekansları
URP1F	ATCCAAGGTCCGAGACAACC
URP2F	GTGTGCGATCAGTTGCTGGG
URP2R	CCCAGCAACTGATCGCACAC
URP4R	AGGACTCGATAACAGGCTCC
URP6R	GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC
URP9F	ATGTGTGCGATCAGTTGCTG
URP13R	TACATCGCAAGTGACACAGG
URP25F	GATGTGTTCTTGGAGCCTGT
URP30F	GGACAAGAAGAGGATGTGGA
URP32F	TACACGTCTCGATCTACAGG
URP38F	AAGAGGCATTCTACCACCAC
FVIIEX8	ATGCACACACACAGG
33.6	GGAGGTGGGCA
M13	GAGGGTGGCGGCTCT
6.2H(-)	CCCTCCTCCTCCTTC
6.2H(+)	AGGAGGAGGGGAAGG
TNZ22	CTCTGGGTGTGGTGC

PZR reaksiyonu hazırlanırken PZR tüplerine önce genomik DNA (8.5µl) konmuştur. Master miks ve Primer miks olmak üzere 2 tip karışım hazırlanmıştır. Primer miks; su ve primerden oluşmakta, master miks; su, 10X PZR tamponu, MgCl₂, dNTP ve *Taq* DNA Polimeraz'dan oluşmaktadır. Hazırlanan primer miks DNA örneklerinin üzerine 6.5 µl olacak şekilde dağıtıldıktan sonra, her bir tüpe 10 µl master miksten ilave edilmiştir. Tüpler iyice karıştırılıp santrifüjlendikten sonra örnekler EST-SSR ve organel primerleri için uygun olan bağlanma sıcaklıklarına göre önceden belirlenmiş 2 farklı ve minisatellit primerler için ise tek bir programda (Çizelge 3.10, 3.11 ve 3.12) PZR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.10. PZR cihazında kullanılan SSR, SCAR, CpSSR, SCAR ve CAPS programı I

Denatürasyon	94 °C	3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	60 °C	45 saniye	10 döngü
Uzama	72 °C	3 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	55 °C	45 saniye	30 döngü
Uzama	72 °C	3 dakika	
Final Uzama	72 °C	10 dakika	1 döngü

Çizelge 3.11. PZR cihazında kullanılan SSR, SCAR, CpSSR, SCAR ve CAPS programı II

Denatürasyon	94 °C	3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	66 °C	45 saniye	10 döngü
Uzama	72 °C	3 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	61 °C	45 saniye	30 döngü
Uzama	72 °C	3 dakika	
Final Uzama	72 °C	10 dakika	1 döngü

Çizelge 3.12. PZR cihazında kullanılan DAMD-PZR programı

Denatürasyon	94 °C	3 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	1 dakika	10 döngü
Bağlanma	50 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	2 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	30 döngü
Bağlanma	40 °C	45 saniye	
Uzama	72 °C	2 dakika	
Final Uzama	72 °C	10 dakika	1 döngü

Polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri PZR'ın çalışıp çalışmadığını kontrol etmek amacıyla öncelikle %1 oranında agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için 0.6 gram agaroz tartılarak 60 ml hacimdeki 1X TBE çözeltisi ile bir erlenmayerde karıştırılarak 300°C dereceye ayarlı mikrodalga fırın içerisinde iyice çözünmesi sağlandıktan sonra 6 µl ethidium bromid (10 mg/ml) eklenmiştir. Agaroz çözeltisi yaklaşık 60°C ye kadar soğutulduktan sonra içerisinde tarak bulunan elektroforesis tepsisine hava kabarcığı oluşmayacak şekilde dökülmüştür. Oda sıcaklığında 30 dk soğumaya bırakılan jel 1 sa +4°C de buzdolabında bekletilerek katılaşması sağlanmıştır.

Elektroforesis tankında 1X TBE çözeltisi jelin üzerini tamamen kaplayacak şekilde döküldükten sonra tarak dikkatlice çıkarılmıştır. PZR ürünleri kuyucuklara yüklenmeden önce yükleme tampon çözeltisi ile boyanmıştır. PZR tüplerinde bulunan 25 µl'lik her bir örneğe 5 µl yükleme tampon çözeltisi eklenmiştir. Her bir örnekten 10 µl alınarak kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforesis sabit 60 V, serbest akım altında (-)'den (+)'ya doğru 30 dk yapılmıştır. Daha sonra UV (Ultraviole) ışığı altında görüntülenmiştir. SSR primer çiftleri kullanılarak yapılan PZR ürünleri çalıştığı teyit

edildikten sonra polimorfizmi belirlemek amacıyla %4 oranında hazırlanmış agaroz jelde (%3 yüksek çözünürlüklü agaroz (Serva) + %1 standart agaroz (Sigma)) 80 V, serbest akım altında (-)'den (+)'ya doğru 4-6 saat yürütüldükten sonra jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3.4. Veri Analizleri

Agaroz jelde yürütülerek görüntülenen PZR ampliconları var (1) ve yok (0) olarak skorlanmış ve ikili veri matrisi oluşturulmuştur. Benzer hareketliliği gösteren ve aynı büyüklükteki bantlar homolog olarak değerlendirilmiştir. Nei & Li'nin genetik benzerlik indeksi formülü:

$$NL_{Cij} = 2a / (a + b) + (a + c)$$

kullanılarak hesaplanmıştır.

Formülde i ve j; örnekleri, a; i ve j örnekleri arasında ortak markır sayısını, b; i örneğinde olan fakat j örneğinde olmayan ve c ise i örneğinde olmayan fakat j örneğinde olan fragmentlerin sayısını ifade etmektedir.

Ortalama genetik benzerlik indeksi (OGBİ) Ince vd (2009)'a göre hesaplanmış olup $OGBİ = \sum OGBİ / n$ formülü kullanılmıştır. Formülde 'n' genetik benzerlik indeksi değerlerinin toplam sayısını ifade etmektedir.

Çok değişkenli kümeleme analizi ve temel koordinat analizi (PCO), verilerin analizinde kullanılmıştır. PCO değerlerden daha ziyade uzaklık matrisi kullanan bir ordinat metodudur (Manly 1994). Nei & Li matrisi temelinde konumsal işaret ve UPGMA dendogramı MVSP software 3.13 versiyonunu kullanarak örnekler arasındaki ilişkileri göstermek için kullanılmıştır. Örnekler arasındaki genetik ilişkilerin doğruluk düzeyleri ise 2000 tekrarlı bootstrap analizi ile hesaplanmıştır (Ince vd 2009).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyonu

Bitkilerden DNA izolasyonu, moleküler analizlerin başlangıç noktasıdır. Bitki organlarının farklılığı; farklı yaprak dokusu ve yaprak yaşı; doku bileşiminde bulunan organik kökenli kimyasallar (polifenoller, polisakkaritler, tanenler ve reçineler vb.) DNA ekstraksiyonunu olumsuz yönde etkilemektedir (Karaca vd 2005). Özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerde güçlü bir oksitleyici ajan olarak iş gören uçucu yağlar, ekstrakte edilen DNA'nın miktarında ve saflığında azalmalara yol açtığı için bir çok tıbbi ve aromatik bitkide kullanılabilecek tek bir DNA izolasyon metodunun oluşturulması mümkün olamamaktadır (Porebski vd 1997, Doyle ve Doyle 1988, Karaca vd 2005).

Bitki yapılarında bulunan ikincil bileşikler DNA'nın çözülmesini engelleyerek büyük miktarda DNA kayıplarına ve sıklıkla analizlerde kullanılan enzimlerin (restriksiyon enzimleri, modifikasyon enzimleri ve DNA polimeraz enzimi gibi) çalışmamasına neden olmaktadır (Scarafani ve Duranti 2001, Karaca vd 2005). Kaufman vd (1999), DNA izolasyonu aşamasında karbonhidratlar ve nükleik asitlerin birlikte çökerek, DNA'yı yapışkan bir eriyik içerisine hapsedtiğini, bunun ise DNA'nın tekrar temizlenmesini zorlaştırdığını ifade etmektedirler.

Origanum ve *Thymus* cinslerine ait bitkilerin doğadan toplanmaları aşamasında olası DNA ekstraksiyon başarısızlığı göz önüne alınarak yeterli miktarlarda örneklerin toplanmasına özen gösterilmiştir. Çalışmada DNA ekstraksiyonu aşamasında sorunlar yaşanmıştır. Buradaki en temel sorun elde edilen DNA kalitesinin düşük olmasıdır. Bu durum bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde toplanmak zorunluluğu nedeniyle taksonlarda büyük oranda fenolik bileşikler ve özellikle polisakkarit içerikleri oldukça yüksek çıkmış, polisakkaritlerin bir kısmının özellik itibarıyla DNA'ya benzemeleri nedeniyle DNA ekstraksiyon sırasında DNA ve polisakkaritlerin eşzamanlı ekstreleri oluşmuş ve elde edilen DNA'ların kalitelerinde düşüşler olmuştur. Tıbbi ve aromatik bitkilerden DNA izolasyonun zorluğu daha önce yapılan çalışmalarda da görülmüştür. *Origanum majorana* L. türünün PZR reaksiyonunu engelleyen çok fazla

sekonder metabolit içerdği Klocke (2002) tarafından da saptanmıştır. Bu tez çalışmasında değişik DNA ekstraksiyon protokolleri uygulanmış ve yapılan bazı değişikliklerle *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerine ait örneklerden kaliteli ve yeterli düzeyde DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Karaca vd 2005).

Yüksek polisakkarit ve sekonder bileşiklerce zengin olan *Origanum* L. ve *Thymus* L. cinslerine ait taksonlarda DNA izolasyonu için Doyle ve Doyle 1988 metodu uyarlanarak kullanılmıştır. Yöntemdeki değişiklikler, düşük CTAB oranlı (% 1) ekstraksiyon tamponu ve fazladan izolasyon aşamaları kullanılarak, DNA miktarının korunması yanında, yüksek saflıkta DNA elde edilmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada *Origanum* L. cinsine ait taksonlardan elde edilen DNA'nın moleküler markır tekniklerinin uygulanabilmesi için uygun miktar ve kalitede olduğu belirlenmiş, ancak *Thymus* cinslerine ait taksonlardan elde edilen DNA'nın miktar ve saflığı konusunda aynı başarı sağlanamamıştır. Örneklerin doğal floradan toplanmış olmasının stres koşulları altında olan bitkilerden elde edilen DNA'nın kalite ve miktarını olumsuz yönde etkilemiş olabileceği düşünülmektedir

Çalışmada *Origanum* L. cinsine ait 63 genotipte ve *Thymus* L. cinsine ait 52 genotipte DNA ekstraksiyonu yapılmış bunların kalite ve miktarları spektrofotometre ve agaroz jel elektroforesis yöntemleriyle belirlenmiştir. Spektrofotometrik okumaları yapılan genotiplere ait toplam DNA %1'lik agaroz jelde görüntülenmiştir. Elektroforesis süresi en az 2 saat tutularak DNA kaliteleri tespit edilmiştir. Jellerin incelenmesi sırasında bazı örnekler ait DNA'ların kırılmış olması nedeniyle bu örnekler ait DNA ekstraksiyonları tekrarlanmış, spektrofotometrik analizleri ve agaroz jel analizleri tekrar gerçekleştirilmiştir.

4.2. DNA Markır Analizleri

Çalışmada birden fazla DNA markır tekniği kullanılmıştır. Nüklear orijinli mikrosatellit veya diğer adıyla SSR tekniği sadece *Origanum* L. taksonlarında kullanılmıştır. Kloroplast orijinli mikrosatellit tekniği (CpSSR diğer adıyla CSSRLP) ise *Thymus* L. taksonlarına uygulanmıştır. Mikrosatellit tekniği diğer yöntemlere göre çok sayıda avantajlara sahiptir ancak *Origanum* L. için çok sınırlı sayıda SSR primer

çifti belirlenmiştir (Novak 2008). *Thymus* L. için ise günümüze değin SSR primer çiftleri belirlenmemiştir. Kloroplast orijinli SSR primer çiftlerinin universal özelliği (Karaca 2002) nedeni ile *Thymus* L. taksonları için bu çalışma kapsamında ilk kez kullanılabilmiştir. SCAR tekniği tek primer çifti ile *Origanum* L. taksonlarında uygulanırken, *Thymus* L. türlerinde SCAR, CAPS (PZR-RFLP) ve DAMD-PZR yöntemleri kullanılmıştır. SCAR ve CAPS teknikleri *Thymus* L. taksonlarının kloroplast ve mitokondri genomlarına uygulanırken DAMD-PZR tekniği *Thymus* L. taksonlarının nüklear genomuna (çekirdek) uygulanmıştır.

4.3. *Origanum* L. DNA Markır Analizleri

Çalışmada *Origanum* L. taksonlarına 3 farklı düzeyde DNA analizi uygulanmıştır. Analizler aynı türde bulunan taksonlara ait DNA örneklerinin birleştirilmesi (tür bazında, Şekil 4.1), aynı lokasyondan toplanan genotiplere ait DNA'ların birleştirilmesi (lokasyon bazında, Çizelge 4.1, Şekil 4.2) ve son olarak da her bir genotipin ayrı ayrı analiz (genotip bazında, Şekil 4.2) edilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir.

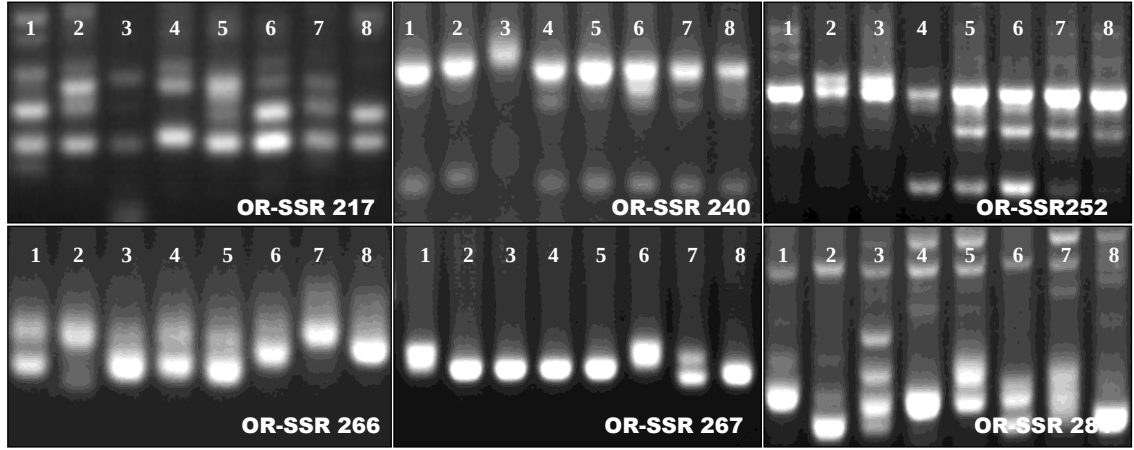
Çalışmada kullanılmak üzere Dr. J. Novak tarafından sağlanan toplam 50 çift SSR primeri Biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak analiz edilmiştir. Bu primerlerin 28 çifti birbirlerine benzer olmaları veya bağlanma sıcaklıklarının uymaması nedeni ile sentezletilmemiştir. Geri kalan 22 adet *Origanum* L.'ye özgü (OR-SSR) primer çifti sentezlenmiş ancak bunlardan 21'i kullanılmıştır. Her bir OR-SSR primer çifti rastgele seçilen bir genotip kullanılarak PZR çalışmalarında denenmiş ve bu primer çiftlerinin *Origanum* L. taksonlarında kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere 21 OR-SSR primer çiftinden 14 adedinin *Origanum* L. türlerini bir birinden ayırt edebilecek düzeyde tanı markırları oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, 63 örnek arasında aynı türe dahil olan 8 örneği kesin olarak diğerlerinden ayıran markır türe özgü markır, 63 örnekten birini diğerlerinden ayırabilen markırlar ise genotipe özgü markır olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. *Origanum* türlerinin toplandığı lokasyonlar, lokasyon numaraları, tür numaraları ve türlerin ait olduğu seksiyonlar

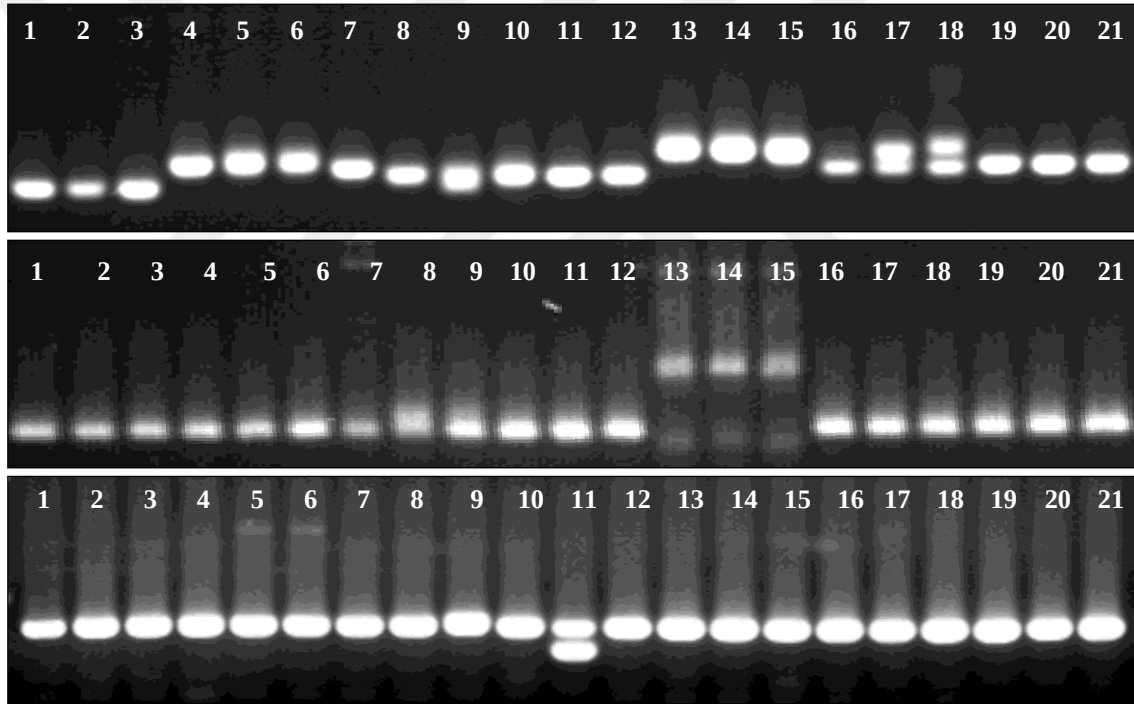
Lokasyon No	Tür No	Seksiyon	Tür	Lokasyon	Yükseklik (m)
1	1		<i>O. saccatum</i>	Gündoğmuş	1008
2			<i>O. saccatum</i>	Alanya	1173
3			<i>O. saccatum</i>	Gazipaşa	281
4	2	<i>Amaracus</i>	<i>O. solymicum</i>	Kemer	51
5			<i>O. solymicum</i>	Kemer	471
6			<i>O. solymicum</i>	Kemer	1149
7	3	<i>Brevifilamentum</i>	<i>O. husnucanbaseri</i>	Alanya	1359
8	4		<i>O. bilgeri</i>	Gündoğmuş	1545
9			<i>O. bilgeri</i>	Akseki	1115
10	5	<i>Chilocalyx</i>	<i>O. minutiflorum</i>	Bozburun	1332
11			<i>O. minutiflorum</i>	Sakarpınar	1788
12			<i>O. minutiflorum</i>	Kemer	1339
13	6		<i>O. majorana</i>	Akseki	582
14			<i>O. majorana</i>	Gazipaşa	1372
15			<i>O. majorana</i>	Alanya	1041
16	7	<i>Majorana</i>	<i>O. onites</i>	Elmalı	1037
17			<i>O. onites</i>	Faselis	-7
18			<i>O. onites</i>	Kumluca	521
19	8		<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i>	Gazipaşa	1468
20		<i>Origanum</i>	<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i>	Kemer	1053
21			<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i>	Alanya	1317

Çizelge 4.2. *Origanum* türleri için belirlenen DNA markırları

Tür adı	Primer çifti	Markır büyüklüğü
<i>O. saccatum</i>	OR-SSR-202	150 – 50 bp
	OR-SSR-227	150 – 50 bp
<i>O. solymicum</i>	OR-SSR-231	150 – 50 bp
<i>O. husnucanbaseri</i>	OR-SSR-240	150 – 50 bp
<i>O. minutiflorum</i>	OR-SSR-213	150 – 50 bp
<i>O. majorana</i>	OR-SSR-231	150 – 50 bp
	OR-SSR-238	300-150 bp
<i>O. onites</i>	OR-SSR-209	150 – 50 bp
	OR-SSR-212	150 – 50 bp
	OR-SSR-218	150 – 50 bp
	OR-SSR-219	150 – 50 bp
	OR-SSR-267	150 – 50 bp
<i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>	OR-SSR-201	150 – 50 bp
	OR-SSR-244	150 – 50 bp



Şekil 4.1. Bazı *Origanum* SSR primer çiftleri ile türlerin amplifikasyonu sonucu elde edilen bant profilleri



Şekil 4.2. Bazı *Origanum* SSR primer çiftleri ile lokasyonların amplifikasyonu sonucu elde edilen bant profilleri. Lokasyon bazında (üst ve orta jel), genotip bazında (alt jel)

Origanum SSR primer çiftleri ile çoğaltılan tür DNA örneklerinden ve lokasyon DNA örneklerinden elde edilen ampliconlar incelendiğinde türlerin belirgin olarak ayrıldığı dikkat çekmektedir. Çalışmada aynı lokasyondan toplanan örnekler arasında amplicon farklılığının bulunması *Origanum* L. taksonlarının genetiksel açıdan farklı olduğunu göstermektedir. Türlerle ait bulk (toplu) DNA'lar kullanılarak bazı *Origanum*

SSR primer çiftleri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri incelendiğinde kullanılan bütün SSR primer çiftlerinin hepsinin türe özgü markır vermediği tespit edilmiştir.

OR-SSR 240 primer çifti ile türlere ait bulk DNA'ların amplifikasyonu sonucu elde edilen bant profilinde *Brevifilamentum* seksiyonunda yer alan ve üç numaralı tür olan *O. husnucanbaseri* belirlenmiştir. OR-SSR 252 primer çifti ile tür düzeyinde markır belirlenememiştir. Bu primer çifti ortak bant veren *Chilocalyx* seksiyonunu (4. ve 5. türler), *Majorana* seksiyonunu (6. ve 7. türler) ve *Origanum* seksiyonunu (8. tür) seksiyon düzeyinde ayırmıştır. OR-SSR 266 primer çifti ile markır belirlenememiştir, ancak türler arası polimorfizm açık olarak görülmektedir. OR-SSR 267 primer çiftine ait bant profilinde ise 7 numaralı tür olan *O. onites*'in çift bant vererek markır oluşturduğu görülmektedir. *Brevifilamentum* seksiyonunda yer alan *O. husnucanbaseri* için OR-SSR 281 primer çiftinde markır belirlenmiştir.

4.4. *Origanum* L. Türlerinin Genetik İlişkileri

Origanum türleri arasındaki genetik ilişki benzerlik indeks değerleri Çizelge 4.3'de görülmektedir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılaacağı üzere türler arasında var olan en yüksek değere 0.675 ± 0.015 ile *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* türleri sahip olmuştur. *O. saccatum* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* ile *O. solymicum* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* türleri arasında ise 0.345 ± 0.014 'lük bir benzerlik indeks değeri belirlenmiştir. Bu durum *Origanum* L. türlerinden *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri*'nin birbirlerine en yakın türler olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan çalışmada kullanılan türlerden *O. vulgare* subsp. *hirtum* türünün ise en farklı tür olduğu ve evrimsel süreç açısından da en yeni tür olduğu öngörülmüştür.

Çizelge 4.4.'de *Origanum* L. türlerinin genotipler arası ilişkileri özetlenmiştir. Çizelgede de görüldüğü üzere *O. saccatum*, *O. solymicum* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* türlerine ait genotipler kendi aralarında yüksek benzerlik gösterirken, *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum*'a ait bireylerin kendi aralarında geniş farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *Origanum* L. türler arası genetik benzerlik indeksi

Tür Adı	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
<i>O. saccatum</i> (1)	1							
<i>O. solymicum</i> (2)	0.519 ± 0.018	1						
<i>O. husnucanbaseri</i> (3)	0.430 ± 0.007	0.435 ± 0.009	1					
<i>O. bilgeri</i> (4)	0.497 ± 0.022	0.473 ± 0.020	0.472 ± 0.006	1				
<i>O. minutiflorum</i> (5)	0.460 ± 0.018	0.463 ± 0.013	0.480 ± 0.012	0.675 ± 0.015	1			
<i>O. majorana</i> (6)	0.379 ± 0.026	0.378 ± 0.014	0.394 ± 0.009	0.503 ± 0.018	0.567 ± 0.018	1		
<i>O. onites</i> (7)	0.436 ± 0.015	0.382 ± 0.018	0.433 ± 0.008	0.527 ± 0.017	0.517 ± 0.022	0.556 ± 0.021	1	
<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (8)	0.345 ± 0.014	0.345 ± 0.014	0.357 ± 0.013	0.441 ± 0.016	0.481 ± 0.016	0.479 ± 0.016	0.531 ± 0.019	1

Çizelge 4.4. *Origanum* L. tür içi ilişki genetik benzerlik indeksi

Tür Adı	Ort.	Sts.	Min.	Lokasyonlar	Maks.	Lokasyonlar
<i>O. saccatum</i>	0.92	0.04	0.85	<i>O. saccatum</i> (Gp 281a)- <i>O. saccatum</i> (Gd 1008c)	1.00	<i>O. saccatum</i> (Al 1173c)- <i>O. saccatum</i> (Al 1173b)
<i>O. solymicum</i>	0.94	0.02	0.90	<i>O. solymicum</i> (Ke 1149b)- <i>O. solymicum</i> (Ke 51c)	1.00	<i>O. solymicum</i> (Ke 51b)- <i>O. solymicum</i> (Ke 51a)
<i>O. husnucanbaseri</i>	0.96	0.01	0.95	<i>O. husnucanbaseri</i> (Al 1359c)- <i>O. husnucanbaseri</i> (Al 1359b)	0.97	<i>O. husnucanbaseri</i> (Al 1359b)- <i>O. husnucanbaseri</i> (Al 1359a)
<i>O. bilgeri</i>	0.89	0.06	0.83	<i>O. bilgeri</i> (Ak 1115a)- <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545b)	0.98	<i>O. bilgeri</i> (Ak 1115c)- <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115b)
<i>O. minutiflorum</i>	0.95	0.02	0.92	<i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788a)- <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332a)	0.99	<i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339c)- <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339a)
<i>O. majorana</i>	0.93	0.02	0.90	<i>O. majorana</i> (Gp 1372c)- <i>O. majorana</i> (Ak 582c)	0.99	<i>O. majorana</i> (Gp 1372b)- <i>O. majorana</i> (Gp 1372a)
<i>O. onites</i>	0.93	0.03	0.87	<i>O. onites</i> (Ku 521a)- <i>O. onites</i> (El 1037a)	0.99	<i>O. onites</i> (Fa 007a)- <i>O. onites</i> (Fa 007b)- <i>O. onites</i> (Fa 007c)
<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i>	0.93	0.03	0.89	<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053b)- <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468a)	1.00	<i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053c)- (Ke 1053a) / <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317c)- (Al 1317a)

Türkiye’de yayılış gösteren *Origanum* cinsine ait türler toplam 8 seksiyonda yer almaktadır. Bu seksiyonları evrimsel olarak sırasıyla; *Amaracus* seksiyonu, *Anatolicon* seksiyonu, *Brevifilamentum* seksiyonu, *Longitubus* seksiyonu, *Chilocalyx* seksiyonu, *Majorana* seksiyonu, *Origanum* seksiyonu ve *Prolaticorolla* seksiyonu şeklinde sıralamak mümkündür.

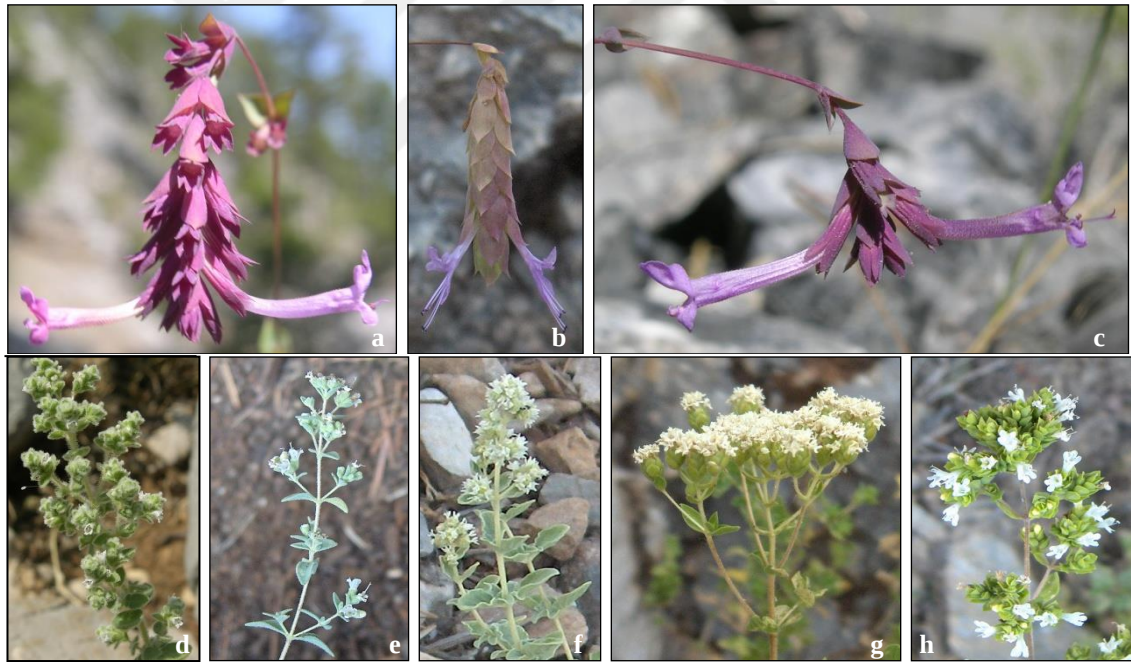
Antalya İli’nde yayılış gösteren ve bu tez çalışmasının materyalini oluşturan *Origanum* L. cinsine ait taksonlar bu seksiyonlardan *Amaracus* (*O. saccatum*, *O. solymicum*), *Brevifilamentum* (*O. husnucanbaseri*), *Chilocalyx* (*O. bilgeri*, *O. minutiflorum*), *Majorana* (*O. majorana*, *O. onites*) ve *Origanum* (*O. vulgare* subsp. *hirtum*) seksiyonlarına aittir.

Şekil 4.3’de çalışmada kullanılan *Origanum* L. türlerine ait bazı fotoğraflar, Şekil 4.4’de Çizelge 4.5’te görülen genetik benzerlik indekslerine göre hesaplanmış olan 63 genotipe ait UPGMA ve Şekil 4.5’de ise PCO analizleri sunulmuştur. Çalışma kapsamında yer alan türlerden *O. saccatum* ve *O. solymicum*, *Amaracus* seksiyonuna aittir. Ülkemizde yayılış gösteren bu cinse ait, evrimsel yönden en ilkel seksiyon olan *Amaracus* seksiyonunda bulunan türlerin ortak morfolojik karakterleri; çiçek durumlarının aşağıya sarkık duruşlu iri başakcıklar şeklinde, dairesel çiçek halkalarının iki çiçekli olması, kaliksin bir veya birbirinden morfolojik olarak oldukça farklı iki dudaklı olması, korollanın kesecikli ve stamenlerin korolladan dışa çıkmış olması, filamentlerin korollayla hemen hemen eşit uzunlukta olmasıdır. Bu türleri Antalya İli’nde yayılış gösteren bu cinse ait diğer türlerden ilk bakışta ayıran en belirgin morfolojik karakter genellikle aşağıya sarkık duruşlu ve iri başakçık şeklindeki çiçek durumlarıdır. *O. saccatum* ve *O. solymicum* bu özellikleriyle arazi ortamında diğer türlerden net biçimde ayrılmaktadır (Şekil 4.3).

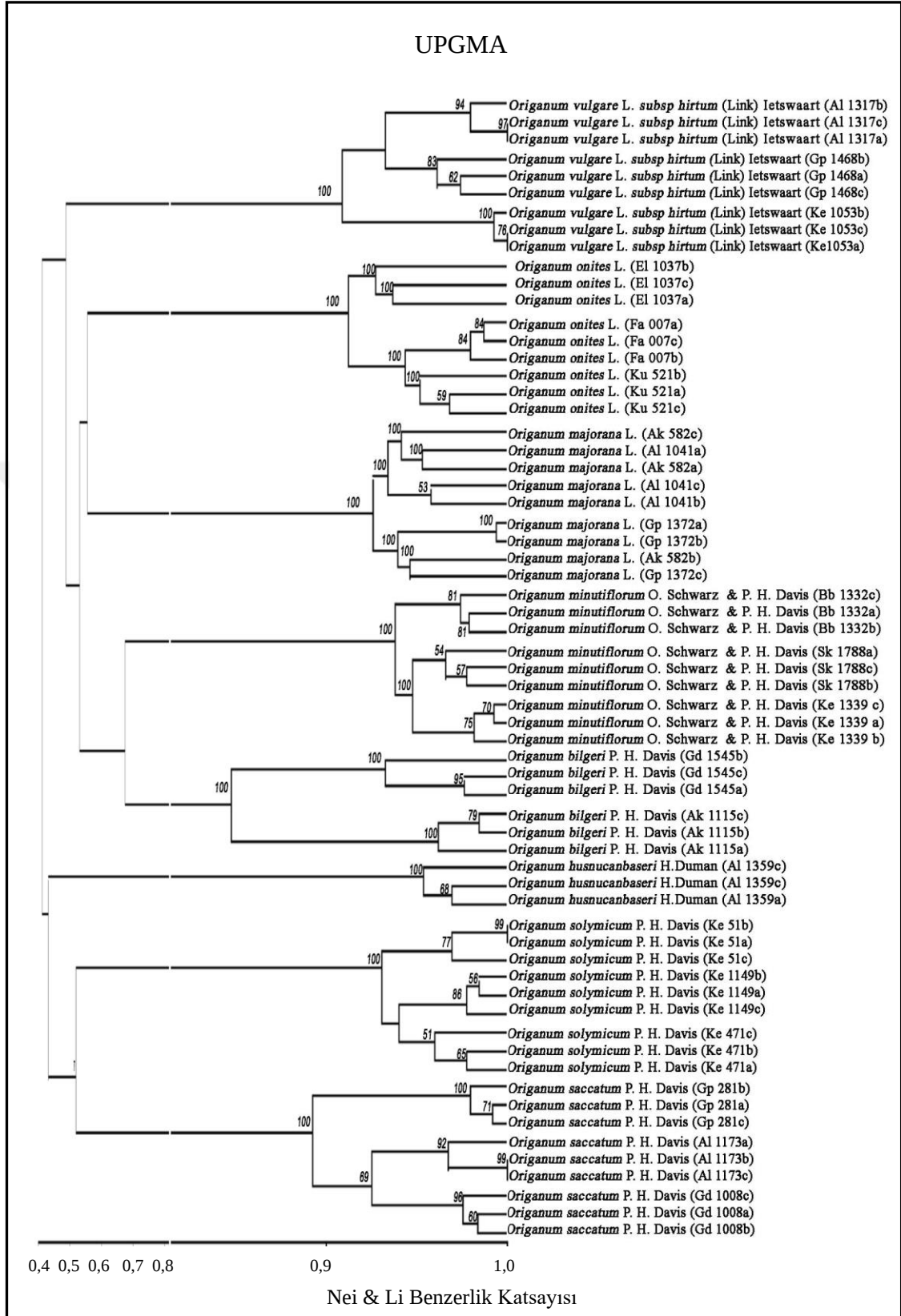
Tez çalışması kapsamında yapılan moleküler filogenetik çalışmalarda, *Amaracus* seksiyonuna ait olan türler diğerlerinden net biçimde ayrılan dallarda yer almıştır (Şekil 4.4). Antalya İli’nde yayılış gösteren *Origanum* türleri arasında *O. saccatum* ve *O. solymicum* türlerine morfolojik olarak en yakın olan tür *O. husnucanbaseri*’dir. Moleküler verilerden elde edilen dendogramda (Şekil 4.4), *O. husnucanbaseri* türü yine

Amaracus seksiyonuna ait olan bu iki tür en yakın konumdadır. Zira bu tür, çalışma içerisinde bulunan seksiyonlardan *Brevifilamentum* seksiyonuna aittir ve bu seksiyon morfolojik olarak da *Amaracus*'a çalışma içerisinde en yakın seksiyondur.

Brevifilamentum seksiyonu morfolojik olarak *Amaracus* seksiyonundan; dairesel çiçek halkalarında birkaç çiçek bulundurmasıyla (iki değil), kaliksin üst ve alt dudaklarında iyi gelişmiş dişler taşımasıyla (dişsiz değil), iki dudaklı olan korolla yapısında kesecik taşımamasıyla (kesecikli değil), stamenlerin oldukça farklı uzunluklarda olmalarıyla (az-çok eşit uzunlukta değil), filamentlerin korolladan oldukça kısa olmalarıyla (korollaya hemen hemen eşit uzunlukta değil) ayrılmaktadır. Bu özellikleri seksiyonun Antalya İli'nde yayılış gösteren tek üyesi olan *O. husnucanbaseri* türünde de görmek mümkündür.



Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan *Origanum* türlerine ait bazı fotoğraflar; a: *O. saccatum* b: *O. solymicum* c: *O. husnucanbaseri* d: *O. bilgeri* e: *O. minutiflorum* f: *O. majorana* g: *O. onites* h: *O. vulgare* subsp. *hirtum*



Şekil 4.4. *Origanum* taksonlarının Nei & Li benzerlik matrisi temel alınarak oluşturulmuş UPGMA ağacı (nodlar üzerindeki rakamlar 2000 tekrarlı bootstrap frekans değerlerini göstermektedir.)

Çizelge 4.5. *Origanum* L. genotiplerine ait genetik benzerlik indeksleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008a)	1.00														
2 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008b)	0.98	1.00													
3 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008c)	0.98	0.98	1.00												
4 <i>O. saccatum</i> (Al 1173a)	0.91	0.93	0.92	1.00											
5 <i>O. saccatum</i> (Al 1173b)	0.93	0.93	0.93	0.97	1.00										
6 <i>O. saccatum</i> (Al 1173c)	0.93	0.93	0.93	0.97	1.00	1.00									
7 <i>O. saccatum</i> (Gp 281a)	0.86	0.88	0.85	0.92	0.92	0.92	1.00								
8 <i>O. saccatum</i> (Gp 281b)	0.89	0.89	0.88	0.89	0.91	0.91	0.98	1.00							
9 <i>O. saccatum</i> (Gp 281c)	0.87	0.89	0.86	0.91	0.91	0.91	0.99	0.98	1.00						
10 <i>O. solymicum</i> (Ke 51a)	0.54	0.54	0.52	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	0.51	1.00					
11 <i>O. solymicum</i> (Ke 51b)	0.54	0.54	0.52	0.51	0.52	0.52	0.52	0.52	0.51	1.00	1.00				
12 <i>O. solymicum</i> (Ke 51c)	0.54	0.54	0.52	0.51	0.53	0.53	0.55	0.55	0.54	0.97	0.97	1.00			
13 <i>O. solymicum</i> (Ke 471a)	0.54	0.54	0.53	0.52	0.52	0.52	0.54	0.54	0.53	0.94	0.94	0.96	1.00		
14 <i>O. solymicum</i> (Ke 471b)	0.55	0.55	0.54	0.50	0.51	0.51	0.53	0.53	0.52	0.93	0.93	0.95	0.98	1.00	
15 <i>O. solymicum</i> (Ke 471c)	0.52	0.52	0.52	0.52	0.55	0.55	0.55	0.55	0.54	0.91	0.91	0.94	0.96	0.96	1.00
16 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149a)	0.52	0.52	0.50	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.49	0.95	0.95	0.92	0.95	0.96	0.93
17 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149b)	0.52	0.52	0.50	0.49	0.50	0.50	0.50	0.50	0.49	0.93	0.93	0.90	0.93	0.94	0.92
18 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149c)	0.52	0.52	0.52	0.51	0.52	0.52	0.48	0.49	0.48	0.92	0.92	0.91	0.94	0.95	0.94
19 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359a)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.42	0.43	0.42	0.44	0.44	0.46	0.43	0.44	0.44
20 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359b)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.42	0.43	0.42	0.44	0.44	0.46	0.43	0.44	0.44
21 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359c)	0.43	0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.45	0.42	0.43	0.43
22 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545a)	0.54	0.54	0.55	0.52	0.52	0.52	0.48	0.48	0.47	0.51	0.51	0.51	0.50	0.50	0.49
23 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545b)	0.50	0.50	0.51	0.49	0.50	0.50	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47	0.47	0.46	0.47	0.46
24 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545c)	0.54	0.54	0.54	0.51	0.52	0.52	0.47	0.48	0.47	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.49
25 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115a)	0.47	0.47	0.48	0.48	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.46	0.46	0.46	0.45	0.45	0.47
26 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115b)	0.49	0.49	0.49	0.49	0.50	0.50	0.48	0.49	0.48	0.46	0.46	0.44	0.45	0.45	0.46
27 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115c)	0.48	0.48	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.50	0.49	0.46	0.46	0.45	0.46	0.46	0.46
28 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332a)	0.47	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47	0.42	0.42	0.42	0.48	0.48	0.47	0.46	0.46	0.45
29 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332b)	0.47	0.47	0.48	0.46	0.47	0.47	0.42	0.43	0.42	0.49	0.49	0.47	0.46	0.47	0.46
30 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332c)	0.47	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47	0.42	0.42	0.42	0.48	0.48	0.47	0.46	0.46	0.45
31 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788a)	0.47	0.47	0.48	0.46	0.47	0.47	0.45	0.46	0.45	0.49	0.49	0.47	0.46	0.47	0.46
32 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788b)	0.47	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47	0.45	0.45	0.45	0.48	0.48	0.47	0.46	0.46	0.45
33 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788c)	0.47	0.47	0.47	0.45	0.46	0.46	0.45	0.45	0.44	0.48	0.48	0.46	0.46	0.46	0.45
34 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339a)	0.48	0.48	0.48	0.48	0.47	0.47	0.44	0.45	0.44	0.47	0.47	0.46	0.45	0.46	0.45
35 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339b)	0.49	0.49	0.49	0.48	0.49	0.49	0.46	0.46	0.45	0.49	0.49	0.47	0.46	0.47	0.46
36 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339c)	0.47	0.47	0.48	0.48	0.47	0.47	0.44	0.44	0.44	0.47	0.47	0.46	0.45	0.45	0.44
37 <i>O. majorana</i> (Ak 582a)	0.38	0.38	0.39	0.37	0.38	0.38	0.34	0.34	0.34	0.40	0.40	0.38	0.38	0.38	0.37
38 <i>O. majorana</i> (Ak 582b)	0.40	0.40	0.40	0.39	0.40	0.40	0.34	0.34	0.34	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.37
39 <i>O. majorana</i> (Ak 582c)	0.41	0.41	0.42	0.40	0.41	0.41	0.36	0.36	0.35	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.39
40 <i>O. majorana</i> (Gp 1372a)	0.41	0.41	0.41	0.39	0.40	0.40	0.36	0.36	0.36	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.38
41 <i>O. majorana</i> (Gp 1372b)	0.41	0.41	0.41	0.40	0.41	0.41	0.36	0.37	0.36	0.40	0.40	0.40	0.39	0.39	0.38
42 <i>O. majorana</i> (Gp 1372c)	0.39	0.39	0.39	0.38	0.39	0.39	0.35	0.35	0.35	0.39	0.39	0.38	0.37	0.38	0.37
43 <i>O. majorana</i> (Al 1041a)	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.32	0.32	0.32	0.37	0.37	0.37	0.36	0.36	0.36
44 <i>O. majorana</i> (Al 1041b)	0.40	0.40	0.40	0.39	0.40	0.40	0.34	0.35	0.34	0.39	0.39	0.39	0.38	0.38	0.38
45 <i>O. majorana</i> (Al 1041c)	0.40	0.40	0.41	0.39	0.40	0.40	0.35	0.35	0.34	0.39	0.39	0.39	0.38	0.39	0.38
46 <i>O. onites</i> (El 1037a)	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.47	0.43	0.43	0.43	0.42	0.42	0.40	0.40	0.40	0.41
47 <i>O. onites</i> (El 1037b)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.45	0.45	0.44	0.44	0.44	0.38	0.38	0.40	0.38	0.38	0.40
48 <i>O. onites</i> (El 1037c)	0.43	0.43	0.44	0.44	0.45	0.45	0.45	0.45	0.44	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41
49 <i>O. onites</i> (Fa 007a)	0.42	0.42	0.42	0.42	0.45	0.45	0.43	0.44	0.43	0.36	0.36	0.39	0.37	0.38	0.40
50 <i>O. onites</i> (Fa 007b)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.45	0.45	0.44	0.44	0.44	0.37	0.37	0.40	0.38	0.38	0.40
51 <i>O. onites</i> (Fa 007c)	0.41	0.41	0.41	0.41	0.43	0.43	0.43	0.44	0.43	0.36	0.36	0.39	0.37	0.38	0.40
52 <i>O. onites</i> (Ku 521a)	0.42	0.42	0.42	0.44	0.44	0.44	0.41	0.42	0.41	0.36	0.36	0.39	0.37	0.37	0.39
53 <i>O. onites</i> (Ku 521b)	0.44	0.44	0.44	0.44	0.46	0.46	0.44	0.44	0.43	0.38	0.38	0.41	0.39	0.39	0.41
54 <i>O. onites</i> (Ku 521c)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.45	0.45	0.43	0.43	0.42	0.37	0.37	0.40	0.38	0.38	0.40
55 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468a)	0.33	0.33	0.35	0.32	0.35	0.35	0.35	0.35	0.34	0.34	0.34	0.35	0.33	0.33	0.34
56 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468b)	0.33	0.33	0.35	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.32
57 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468c)	0.33	0.33	0.35	0.32	0.35	0.35	0.35	0.35	0.34	0.34	0.34	0.35	0.33	0.33	0.34
58 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053a)	0.37	0.37	0.37	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.36	0.37	0.37	0.37	0.36	0.37	0.36
59 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053b)	0.36	0.36	0.37	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.36	0.37	0.37	0.37	0.36	0.36	0.36
60 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053c)	0.37	0.37	0.37	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.36	0.37	0.37	0.37	0.36	0.37	0.36
61 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317a)	0.34	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.33
62 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317b)	0.34	0.34	0.34	0.32	0.33	0.33	0.33	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.33	0.34	0.33
63 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317c)	0.34	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.33

Çizelge 4.5. Devamı

Takson Adı ve Lokasyonu	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008a)																
2 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008b)																
3 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008c)																
4 <i>O. saccatum</i> (Al 1173a)																
5 <i>O. saccatum</i> (Al 1173b)																
6 <i>O. saccatum</i> (Al 1173c)																
7 <i>O. saccatum</i> (Gp 281a)																
8 <i>O. saccatum</i> (Gp 281b)																
9 <i>O. saccatum</i> (Gp 281c)																
10 <i>O. solymicum</i> (Ke 51a)																
11 <i>O. solymicum</i> (Ke 51b)																
12 <i>O. solymicum</i> (Ke 51c)																
13 <i>O. solymicum</i> (Ke 471a)																
14 <i>O. solymicum</i> (Ke 471b)																
15 <i>O. solymicum</i> (Ke 471c)																
16 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149a)	1.00															
17 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149b)	0.99	1.00														
18 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149c)	0.98	0.98	1.00													
19 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359a)	0.42	0.44	0.44	1.00												
20 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359b)	0.42	0.44	0.44	0.97	1.00											
21 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359c)	0.41	0.43	0.43	0.95	0.95	1.00										
22 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545a)	0.49	0.49	0.51	0.48	0.48	0.48	1.00									
23 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545b)	0.45	0.47	0.47	0.47	0.47	0.46	0.94	1.00								
24 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545c)	0.49	0.49	0.50	0.47	0.47	0.48	0.98	0.93	1.00							
25 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115a)	0.47	0.47	0.46	0.47	0.47	0.48	0.85	0.83	0.86	1.00						
26 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115b)	0.47	0.48	0.47	0.47	0.47	0.48	0.86	0.86	0.84	0.96	1.00					
27 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115c)	0.47	0.47	0.46	0.46	0.46	0.47	0.86	0.84	0.84	0.97	0.99	1.00				
28 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332a)	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.46	0.71	0.71	0.69	0.67	0.69	0.68	1.00			
29 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332b)	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.46	0.70	0.70	0.68	0.69	0.71	0.70	0.98	1.00		
30 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332c)	0.46	0.46	0.47	0.47	0.47	0.46	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.67	0.97	0.98	1.00	
31 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788a)	0.45	0.47	0.46	0.49	0.49	0.49	0.66	0.67	0.66	0.68	0.70	0.69	0.92	0.94	0.93	1.00
32 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788b)	0.45	0.46	0.45	0.50	0.50	0.49	0.67	0.68	0.67	0.68	0.68	0.67	0.94	0.95	0.96	0.96
33 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788c)	0.44	0.46	0.45	0.49	0.49	0.49	0.65	0.68	0.65	0.66	0.67	0.67	0.92	0.93	0.93	0.97
34 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339a)	0.44	0.44	0.44	0.49	0.49	0.48	0.66	0.66	0.66	0.67	0.67	0.66	0.93	0.94	0.93	0.95
35 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339b)	0.45	0.45	0.46	0.49	0.49	0.48	0.67	0.67	0.67	0.68	0.68	0.67	0.95	0.96	0.95	0.96
36 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339c)	0.44	0.44	0.44	0.49	0.49	0.48	0.66	0.65	0.65	0.66	0.66	0.66	0.94	0.94	0.93	0.96
37 <i>O. majorana</i> (Ak 582a)	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.50	0.50	0.49	0.46	0.48	0.47	0.56	0.58	0.57	0.57
38 <i>O. majorana</i> (Ak 582b)	0.36	0.36	0.37	0.38	0.38	0.38	0.51	0.50	0.51	0.49	0.50	0.50	0.58	0.59	0.58	0.57
39 <i>O. majorana</i> (Ak 582c)	0.37	0.37	0.39	0.40	0.40	0.39	0.53	0.52	0.52	0.48	0.49	0.49	0.57	0.58	0.57	0.57
40 <i>O. majorana</i> (Gp 1372a)	0.36	0.36	0.38	0.41	0.41	0.40	0.52	0.51	0.52	0.50	0.51	0.51	0.56	0.58	0.56	0.58
41 <i>O. majorana</i> (Gp 1372b)	0.37	0.37	0.38	0.41	0.41	0.40	0.52	0.52	0.52	0.50	0.52	0.51	0.57	0.58	0.57	0.59
42 <i>O. majorana</i> (Gp 1372c)	0.36	0.36	0.37	0.39	0.39	0.38	0.51	0.50	0.50	0.51	0.53	0.52	0.58	0.59	0.58	0.58
43 <i>O. majorana</i> (Al 1041a)	0.34	0.34	0.35	0.39	0.39	0.38	0.49	0.48	0.49	0.46	0.47	0.46	0.53	0.55	0.53	0.52
44 <i>O. majorana</i> (Al 1041b)	0.36	0.36	0.37	0.40	0.40	0.39	0.53	0.52	0.51	0.48	0.51	0.50	0.57	0.58	0.56	0.55
45 <i>O. majorana</i> (Al 1041c)	0.36	0.36	0.38	0.40	0.40	0.40	0.53	0.52	0.51	0.48	0.51	0.50	0.57	0.59	0.56	0.55
46 <i>O. onites</i> (El 1037a)	0.41	0.41	0.42	0.43	0.43	0.44	0.57	0.56	0.55	0.53	0.56	0.56	0.57	0.57	0.57	0.55
47 <i>O. onites</i> (El 1037b)	0.38	0.38	0.38	0.44	0.44	0.45	0.53	0.53	0.51	0.54	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.53
48 <i>O. onites</i> (El 1037c)	0.39	0.37	0.39	0.42	0.42	0.42	0.53	0.52	0.53	0.54	0.54	0.55	0.53	0.54	0.55	0.52
49 <i>O. onites</i> (Fa 007a)	0.36	0.35	0.36	0.43	0.43	0.44	0.53	0.50	0.51	0.53	0.53	0.54	0.53	0.53	0.53	0.50
50 <i>O. onites</i> (Fa 007b)	0.37	0.35	0.37	0.44	0.44	0.45	0.53	0.51	0.51	0.54	0.54	0.55	0.53	0.54	0.54	0.51
51 <i>O. onites</i> (Fa 007c)	0.36	0.35	0.36	0.42	0.42	0.43	0.51	0.50	0.49	0.52	0.52	0.53	0.53	0.53	0.53	0.50
52 <i>O. onites</i> (Ku 521a)	0.36	0.35	0.36	0.43	0.43	0.44	0.52	0.50	0.50	0.51	0.51	0.52	0.52	0.53	0.52	0.49
53 <i>O. onites</i> (Ku 521b)	0.38	0.36	0.38	0.44	0.44	0.44	0.53	0.51	0.53	0.54	0.52	0.53	0.53	0.53	0.55	0.51
54 <i>O. onites</i> (Ku 521c)	0.37	0.36	0.37	0.43	0.43	0.43	0.53	0.51	0.51	0.52	0.52	0.53	0.53	0.54	0.53	0.50
55 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468a)	0.33	0.33	0.34	0.36	0.36	0.37	0.44	0.45	0.44	0.43	0.42	0.43	0.49	0.48	0.47	0.49
56 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468b)	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.42	0.43	0.42	0.42	0.42	0.42	0.47	0.47	0.47	0.49
57 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468c)	0.33	0.33	0.34	0.35	0.35	0.36	0.43	0.43	0.42	0.43	0.42	0.43	0.47	0.48	0.47	0.49
58 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053a)	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.46	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.50	0.50	0.52
59 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053b)	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.46	0.47	0.46	0.45	0.45	0.46	0.49	0.50	0.49	0.51
60 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053c)	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.46	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.50	0.50	0.50	0.52
61 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317a)	0.34	0.34	0.34	0.36	0.36	0.36	0.45	0.45	0.44	0.43	0.43	0.43	0.48	0.47	0.47	0.48
62 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317b)	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.44	0.45	0.44	0.42	0.42	0.43	0.48	0.47	0.46	0.48
63 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317c)	0.34	0.34	0.34	0.36	0.36	0.36	0.45	0.45	0.44	0.43	0.43	0.43	0.48	0.47	0.47	0.48

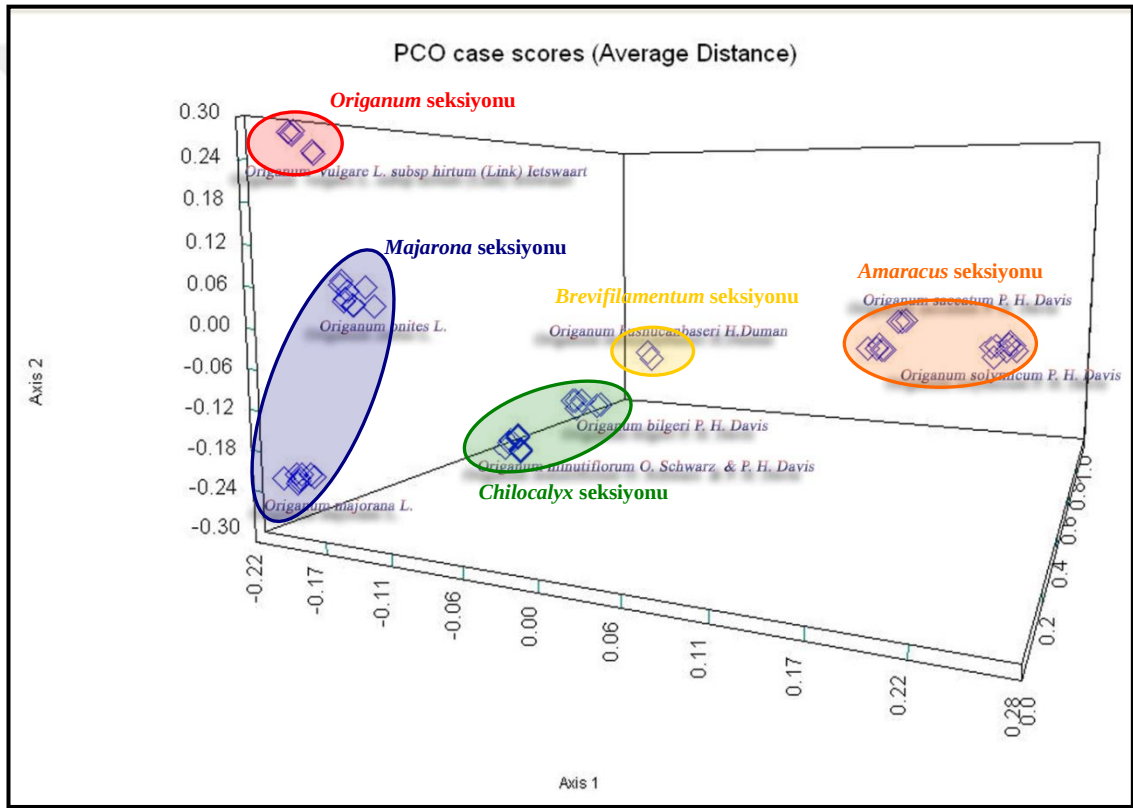
Çizelge 4.5. Devamı

Takson Adı ve Lokasyonu	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
1 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008a)																
2 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008b)																
3 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008c)																
4 <i>O. saccatum</i> (Al 1173a)																
5 <i>O. saccatum</i> (Al 1173b)																
6 <i>O. saccatum</i> (Al 1173c)																
7 <i>O. saccatum</i> (Gp 281a)																
8 <i>O. saccatum</i> (Gp 281b)																
9 <i>O. saccatum</i> (Gp 281c)																
10 <i>O. solymicum</i> (Ke 51a)																
11 <i>O. solymicum</i> (Ke 51b)																
12 <i>O. solymicum</i> (Ke 51c)																
13 <i>O. solymicum</i> (Ke 471a)																
14 <i>O. solymicum</i> (Ke 471b)																
15 <i>O. solymicum</i> (Ke 471c)																
16 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149a)																
17 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149b)																
18 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149c)																
19 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359a)																
20 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359b)																
21 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359c)																
22 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545a)																
23 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545b)																
24 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545c)																
25 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115a)																
26 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115b)																
27 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115c)																
28 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332a)																
29 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332b)																
30 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332c)																
31 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788a)																
32 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788b)	1.00															
33 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788c)	0.98	1.00														
34 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339a)	0.94	0.93	1.00													
35 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339b)	0.96	0.94	0.98	1.00												
36 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339c)	0.95	0.94	0.99	0.99	1.00											
37 <i>O. majorana</i> (Ak 582a)	0.57	0.56	0.57	0.58	0.57	1.00										
38 <i>O. majorana</i> (Ak 582b)	0.57	0.56	0.57	0.58	0.57	0.94	1.00									
39 <i>O. majorana</i> (Ak 582c)	0.57	0.57	0.58	0.58	0.57	0.95	0.94	1.00								
40 <i>O. majorana</i> (Gp 1372a)	0.58	0.57	0.58	0.59	0.58	0.91	0.93	0.93	1.00							
41 <i>O. majorana</i> (Gp 1372b)	0.58	0.58	0.59	0.60	0.58	0.92	0.94	0.93	0.99	1.00						
42 <i>O. majorana</i> (Gp 1372c)	0.58	0.57	0.58	0.59	0.58	0.93	0.95	0.90	0.94	0.95	1.00					
43 <i>O. majorana</i> (Al 1041a)	0.52	0.52	0.54	0.54	0.54	0.95	0.94	0.94	0.91	0.92	0.94	1.00				
44 <i>O. majorana</i> (Al 1041b)	0.54	0.54	0.55	0.56	0.55	0.92	0.94	0.92	0.92	0.92	0.94	0.95	1.00			
45 <i>O. majorana</i> (Al 1041c)	0.55	0.54	0.55	0.56	0.55	0.94	0.92	0.92	0.92	0.93	0.93	0.95	0.96	1.00		
46 <i>O. onites</i> (El 1037a)	0.54	0.54	0.54	0.55	0.53	0.57	0.57	0.59	0.57	0.57	0.57	0.55	0.59	0.56	1.00	
47 <i>O. onites</i> (El 1037b)	0.52	0.52	0.51	0.52	0.51	0.58	0.56	0.54	0.55	0.55	0.59	0.56	0.60	0.57	0.93	1.00
48 <i>O. onites</i> (El 1037c)	0.52	0.52	0.51	0.52	0.51	0.54	0.55	0.54	0.55	0.55	0.56	0.53	0.55	0.56	0.92	0.94
49 <i>O. onites</i> (Fa 007a)	0.50	0.50	0.49	0.50	0.49	0.53	0.54	0.52	0.53	0.53	0.55	0.55	0.57	0.56	0.88	0.93
50 <i>O. onites</i> (Fa 007b)	0.51	0.50	0.50	0.51	0.50	0.54	0.55	0.53	0.54	0.54	0.56	0.56	0.58	0.57	0.89	0.95
51 <i>O. onites</i> (Fa 007c)	0.50	0.50	0.49	0.50	0.49	0.53	0.53	0.51	0.52	0.52	0.54	0.54	0.56	0.55	0.88	0.93
52 <i>O. onites</i> (Ku 521a)	0.48	0.48	0.49	0.49	0.49	0.54	0.55	0.53	0.53	0.53	0.55	0.57	0.59	0.57	0.87	0.93
53 <i>O. onites</i> (Ku 521b)	0.50	0.50	0.50	0.51	0.49	0.57	0.58	0.56	0.56	0.56	0.58	0.58	0.60	0.58	0.89	0.93
54 <i>O. onites</i> (Ku 521c)	0.49	0.49	0.49	0.50	0.48	0.56	0.57	0.55	0.55	0.55	0.57	0.58	0.60	0.58	0.88	0.92
55 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468a)	0.49	0.48	0.47	0.48	0.46	0.47	0.46	0.47	0.48	0.48	0.47	0.46	0.47	0.48	0.52	0.53
56 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468b)	0.48	0.48	0.46	0.47	0.46	0.47	0.47	0.48	0.48	0.48	0.46	0.46	0.46	0.46	0.52	0.50
57 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468c)	0.49	0.48	0.47	0.48	0.46	0.46	0.46	0.47	0.48	0.48	0.47	0.45	0.46	0.46	0.53	0.51
58 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053a)	0.51	0.51	0.49	0.50	0.49	0.49	0.49	0.51	0.51	0.52	0.50	0.47	0.49	0.50	0.57	0.54
59 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053b)	0.51	0.50	0.49	0.50	0.48	0.49	0.49	0.50	0.51	0.51	0.50	0.47	0.49	0.49	0.57	0.53
60 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053c)	0.51	0.51	0.49	0.50	0.49	0.49	0.49	0.51	0.51	0.52	0.50	0.47	0.49	0.50	0.57	0.54
61 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317a)	0.48	0.48	0.46	0.47	0.46	0.48	0.46	0.48	0.48	0.49	0.47	0.47	0.48	0.48	0.53	0.52
62 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317b)	0.48	0.47	0.46	0.47	0.45	0.46	0.46	0.48	0.48	0.48	0.47	0.45	0.46	0.47	0.54	0.50
63 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317c)	0.48	0.48	0.46	0.47	0.46	0.48	0.46	0.48	0.48	0.49	0.47	0.47	0.48	0.48	0.53	0.52

Çizelge 4.5. Devamı

Takson Adı ve Lokasyonu	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
1 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008a)																
2 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008b)																
3 <i>O. saccatum</i> (Gd 1008c)																
4 <i>O. saccatum</i> (Al 1173a)																
5 <i>O. saccatum</i> (Al 1173b)																
6 <i>O. saccatum</i> (Al 1173c)																
7 <i>O. saccatum</i> (Gp 281a)																
8 <i>O. saccatum</i> (Gp 281b)																
9 <i>O. saccatum</i> (Gp 281c)																
10 <i>O. solymicum</i> (Ke 51a)																
11 <i>O. solymicum</i> (Ke 51b)																
12 <i>O. solymicum</i> (Ke 51c)																
13 <i>O. solymicum</i> (Ke 471a)																
14 <i>O. solymicum</i> (Ke 471b)																
15 <i>O. solymicum</i> (Ke 471c)																
16 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149a)																
17 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149b)																
18 <i>O. solymicum</i> (Ke 1149c)																
19 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359a)																
20 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359b)																
21 <i>O. husnucanbaserii</i> (Al 1359c)																
22 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545a)																
23 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545b)																
24 <i>O. bilgeri</i> (Gd 1545c)																
25 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115a)																
26 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115b)																
27 <i>O. bilgeri</i> (Ak 1115c)																
28 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332a)																
29 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332b)																
30 <i>O. minutiflorum</i> (Bb 1332c)																
31 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788a)																
32 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788b)																
33 <i>O. minutiflorum</i> (Sk 1788c)																
34 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339a)																
35 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339b)																
36 <i>O. minutiflorum</i> (Ke 1339c)																
37 <i>O. majorana</i> (Ak 582a)																
38 <i>O. majorana</i> (Ak 582b)																
39 <i>O. majorana</i> (Ak 582c)																
40 <i>O. majorana</i> (Gp 1372a)																
41 <i>O. majorana</i> (Gp 1372b)																
42 <i>O. majorana</i> (Gp 1372c)																
43 <i>O. majorana</i> (Al 1041a)																
44 <i>O. majorana</i> (Al 1041b)																
45 <i>O. majorana</i> (Al 1041c)																
46 <i>O. onites</i> (El 1037a)																
47 <i>O. onites</i> (El 1037b)																
48 <i>O. onites</i> (El 1037c)	1.00															
49 <i>O. onites</i> (Fa 007a)	0.94	1.00														
50 <i>O. onites</i> (Fa 007b)	0.94	0.99	1.00													
51 <i>O. onites</i> (Fa 007c)	0.94	0.99	0.97	1.00												
52 <i>O. onites</i> (Ku 521a)	0.90	0.96	0.95	0.94	1.00											
53 <i>O. onites</i> (Ku 521b)	0.92	0.94	0.94	0.93	0.95	1.00										
54 <i>O. onites</i> (Ku 521c)	0.90	0.95	0.95	0.94	0.97	0.96	1.00									
55 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468a)	0.54	0.56	0.55	0.56	0.53	0.54	0.54	1.00								
56 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468b)	0.53	0.53	0.52	0.53	0.50	0.51	0.51	0.96	1.00							
57 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Gp 1468c)	0.54	0.55	0.54	0.55	0.52	0.52	0.53	0.97	0.97	1.00						
58 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053a)	0.58	0.54	0.54	0.54	0.51	0.53	0.52	0.90	0.91	0.91	1.00					
59 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053b)	0.58	0.54	0.53	0.54	0.51	0.53	0.52	0.89	0.91	0.92	0.99	1.00				
60 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Ke 1053c)	0.58	0.54	0.54	0.54	0.51	0.53	0.52	0.90	0.91	0.91	1.00	0.99	1.00			
61 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317a)	0.55	0.54	0.53	0.54	0.51	0.52	0.52	0.95	0.93	0.92	0.91	0.90	0.91	1.00		
62 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317b)	0.54	0.52	0.52	0.52	0.49	0.50	0.50	0.93	0.94	0.94	0.92	0.93	0.92	0.98	1.00	
63 <i>O. vulgare</i> subsp <i>hirtum</i> (Al 1317c)	0.55	0.54	0.53	0.54	0.51	0.52	0.52	0.95	0.93	0.92	0.91	0.90	0.91	1.00	0.98	1.00

Tez çalışması kapsamında elde edilen filogenetik ağaç değerlendirildiğinde bu ağaçta yer alan ilk dallanmanın, birbirlerine olan morfolojik yakınlıklarıyla dikkat çeken *O. saccatum*, *O. solymicum* ve *O. husnucanbaseri* türlerinin oluşturduğu grupta diğer türler arasında olduğu dikkat çekmektedir. *Amaracus* ve çalışmada yer alan yakın seksiyonu olan *Brevifilamentum* içerisinde yer alan bu üç tür kendi aralarında % 77 bootstrap oranıyla ayrılmıştır. *O. husnucanbaseri* yukarıda belirtilen morfolojik özelliklerine göre evrimsel olarak *Amaracus* seksiyonunda yer alan türlerden daha gelişmiştir. Bu veriyi, oluşturulan filogenetik ağaç ve PCO grafiği de (Şekil 4.5) daha açık bir şekilde desteklemektedir.



Şekil 4.5. *Origanum* cinsine ait üç boyutlu PCO analiz grafiği

Türkiye florasında yer alan *Origanum* cinsine ait taksonları birbirinden ayıran teşhis anahtarlarında kullanılan özelliklerin aynı zamanda bu taksonları birbirinden seksiyon düzeyinde ayıran karakterler oldukları görülür. *Origanum* cinsine ait mevcut morfolojik karakterler bir bütün olarak düşünüldüğünde bazı karakterlerin diğerlerine göre daha stabil ve cins sistematğinde kullanılan daha baskın karakterler oldukları görülmektedir. Bunlardan biri de kaliks yapısı ve bu yapıda türden türe değişik özellikler gösteren

morfolojik özelliklerdir. Türkiye Florası'nda *Origanum* cinsinden bir önce yer alan *Prunella* cinsinde kaliksin tübular yapılı ve iki dudaklı olduğu, üstteki dudak üzerinde diş olduğu görülmektedir. *Origanum* türlerinin birbirinden ayrımında kullanılan ilk özellik de yine kaliks yapısının diş taşıyıp taşıyamaması veya bir-iki dudaklı olup olmamasıdır. *Origanum* cinsi bu karakter bakımından tam bir karakter geçişinde bulunmaktadır

Ülkemizde yayılış gösteren *Origanum* türlerinin bir kısmı bir-iki dudaklı olup (bu dudaklar dişli veya değildir) geri kalan kısmının ise herhangi bir dudak parçalanması olmadan 5 adet hemen hemen birbirine eşit uzunlukta, düzenli beş diş yapısına sahip olduğu görülmektedir. Türkiye Florası kayıtlarında *Origanum*'dan hemen sonra gelen cinsler olan *Pentapleura* ve *Satureja*'da da kaliksin dudak ayrımı olmadan düzenli beş diş taşıması dikkat çekicidir. Tez çalışması kapsamında değerlendirilen türlerden *O. vulgare* dışında tüm türlerde kaliks yapısı bir veya iki dudaklıdır. *O. vulgare Origanum* seksiyonunda yer alan düzenli beş dişli kaliks yapısına sahip olan bir türdür. Ülkemizde dört alttürle temsil edilen bu tür Antalya İli'nde subsp. *hirtum* alttürüyle temsil edilmekte ve çalışma kapsamında yer alan diğer türlerden kaliksin yukarıda belirtilen yapısı yanında, çiçek durumlarının dik duruşlu küçük başakcıklar halinde, dairesel çiçek halkalarında iki çiçekli olmasıyla, korollanın kaliksin yaklaşık 2.5 katı uzunluğunda, stamenlerin farklı uzunluklarda ve korolladan dışa kısa çıkışlı olmasıyla ve filamentlerin korollanın yarısı uzunluğunda olmasıyla ayrılmaktadır.

Bu özellikleriyle diğer türlerden evrimsel olarak daha ileri sayılabilecek morfolojik karakterler taşıyan *O. vulgare*, Şekil 4.4'de sunulan filogenetik ağaçta da net biçimde görüldüğü üzere *Majorana* (*O. majorana*, *O. onites*) ve *Chilocalyx* (*O. bilgeri*, *O. minutiflorum*) seksiyonlarından tek başına ayrılan ayrı bir dal çizmiştir. Bu durumu Şekil 4.5'de sunulan PCO grafiği ve köklendirilmemiş gruplama analizi de desteklemektedir.

Antalya İli'nde yayılış gösteren *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* türleri ise *Chilocalyx* seksiyonuna aittir. Bu türlerin her ikisi de ülkemize endemik olan ve sadece Antalya İli'nde yayılış gösteren türlerdir. Bu türler, çiçek durumlarının dik duruşlu ve küçük

başakcıklar şeklinde olmasıyla; dairesel çiçek halkalarının iki çiçekli; kaliksin bir veya iki dudaklı ve bu dudakların genellikle küçük dişler taşımasıyla; korollanın iki dudaklı ve kaliksin yaklaşık iki katı uzunlukta olmasıyla; stamenlerin az-çok eşit uzunlukta, korollanın içinde kalmasıyla, filamentlerin korollanın hemen hemen yarısı uzunluğunda olmasıyla karakterizedir.

O. minutiflorum türüne ait ilk örnekler 1947 yılında Tahtalı Dağı'ndan, Türkiye Florası'nın da editörü olan P. H. Davis tarafından toplanmış ve 1949 yılında O. Schwarz ile birlikte bilim dünyasına tanıtılmıştır. *O. minutiflorum* Antalya İli'nde en doğuda Tahtalı Dağı, Beydağları, Saklıkent ve yakın civarında, en batıda ise Bozburun Dağı ve yakın çevresinde yayılış göstermektedir. Bu seksiyonun çalışma kapsamında yer alan diğer türü *O. bilgeri* türüne ait tip örnekleri ise yine Davis tarafından Gündoğmuş İlçesi Han Boğazı alanından toplanmış ve bilim dünyasına tanıtılmıştır. Yakın döneme kadar sadece tip lokasyonundan bilinen bu türe ait bir diğer lokasyon Tuzaklı, Otluk, Gidefi Dağları, (Akseki) ve Çevresinin Florası isimli çalışma kapsamında 1995 yılında Ahmet Duran tarafından Akseki Serebil Çeşmesi civarında tespit edilmiştir. Tez kapsamında yapılan arazi çalışmalarında bu seksiyona ait her iki tür tip lokasyonları da dahil olmak üzere adı geçen bölgelerde gözlenmiş ve toplanmıştır.

Origanum cinsini revize eden Ietswaart'ın Türkiye Florası'nda da belirttiği gibi Antalya İli'ne endemik olan bu türlerin mevcut yayılışlarının geçiş gösterdiği Bozburun Dağı gibi lokasyonlarda her iki türün de morfolojik karakterlerini taşıyan bazı örnekler bulunmaktadır. Bu örneklerin geçiş özellikleri gösterdiğini ortaya koyan en güçlü morfolojik kanıt, kalikslerinin genel yapı, tüylenme karakterlerinde ve braktelerine olan oranlarında görülmektedir. Her iki tür arasındaki en önemli morfolojik farklılıklar gövde ve yaprak tüy yapısı, brakte ve korolla boyutları ve kaliksin genel yapısında görülmektedir. Hatta *Origanum* cinsinin tür teşhis anahtarında da bu iki tür adı geçen morfolojik özelliklerine göre birbirlerinden ayrılmaktadır. *O. minutiflorum*'un gövde ve yaprak tüylenmesi piloz (seyrek tüylü)'dur. Oysa aynı özellik *O. bilgeri*'de seyrek tomentoz veya pubescent olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun yanında *O. bilgeri*'nin brakteleri ve korollaları *O. minutiflorum*'a göre daha geniş ve daha uzundur. Çalışma kapsamında yapılan arazi çalışmalarında Akseki Serebil kuyusu ve yakın çevresinden

toplanan örneklerde bu özellikler birbirinin içine geçmiş durumdadır. Bu bölgeden toplanan örneklerde genel gövde ve yaprak tüylenmesi *O. minutiflorum*'a benzerken brakteler *O. bilgeri*'ye daha yakındır. Braktelerin kalikse göre genişliği ve kalikse göre büyüklüğü her iki türün geçişinde olan bu örnekler Ietswart'ın Flora da belirttiği üzere Bozburun Dağı'nda da yayılış göstermektedir. Davis 1945 yılında bu bölgeden topladığı örneklerin bu iki türün geçişinde olduğunu belirtmiş ve bu örneklerin taksonomik yerinin tam olarak ortaya konması amacıyla daha fazla taksonomik çalışma yapılması gerektiğini vurgulamıştır.

Akseki Serebil Kuyusu ve yakın civarından toplanan örnekler morfolojik olarak *O. bilgeri*'ye olan yakınlıkları sebebiyle tez çalışması kapsamında bu isim altında değerlendirilmiştir. Filogenetik ağaçta *Chilocalyx* seksiyonu içerisinde bulunan *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* türlerini taşıyan dalın *Majorana* seksiyonu içerisinde bulunan *O. majorana* ve *O. onites* türlerinden ayrıldığı görülmektedir. Bu durum gerek tez kapsamında yapılan arazi çalışmalarında elde edilen verileri gerekse türlerin morfolojik karakterlerinin ilkinden gelişmişe doğru sıralanış bulgularını açıkça desteklemektedir. Zira *O. majorana* ve *O. onites*, *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* türlerinden braktelerin kaliksi sarmasıyla, kaliksin herhangi bölünme olmaksızın düz biçimde, brakte benzeri ve tek dudaklı olmasıyla, korollanın düz, stamenlerin farklı uzunluklarda, korolladan az-çok dışarıda olmasıyla ayrılmaktadır. Bu verileri çalışma sonucunda elde edilen PCO grafiği ve köklendirilmemiş gruplama analizi de desteklemektedir. Şekil 4.5'de sunulan PCO grafiğinde *O. bilgeri* ve *O. minutiflorum* birbirine yakın biçimde konumlanmışken, *O. majorana* ve *O. onites*'in bu türlere çalışmanın diğer türlerinden daha yakın olmakla birlikte bu iki türden ayrı gruplandığı dikkat çekmektedir.

Proje kapsamında *O. saccatum*, *O. solymicum*, *O. minutiflorum*, *O. majorana* ve *O. onites* türler bazında 3 lokasyondan, *O. bilgeri* tür bazında 2 lokasyondan, *O. husnucanbaseri* tür bazında bir lokasyondan ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* ise alttür olarak 3 lokasyondan toplanmıştır. Her bir *Origanum* taksonu çiçeklenme döneminde toplanmış, bazı durumlarda çiçeklenme zamanını yakalamak amacıyla aynı lokasyon

birden fazla ziyaret edilmiştir. Toplam lokasyon sayısı 21 olup Antalya'nın büyük bir kısmını kapsayacak şekilde toplanmıştır.

Antalya'nın doğusunda yayılış gösteren *O. saccatum* türü Gazipaşa, Alanya ve Gündoğmuş lokasyonlarından örneklenmiştir. Gazipaşa lokasyonu (281 m) Alanya (1173 m) ve Gündoğmuş (1008 m) lokasyonlarından yükseklik farkı ile belirgin olarak ayrılmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen bootstrap değerlerinin ve UPGMA ağacının da bu ayırımı desteklediği görülmektedir (Şekil 4.4) .

Antalya iline özgü bir tür olan ve Kemer bölgesinde lokal endemik olarak yayılış gösteren *O. solymicum* türü, bu bölgeden 51 m, 471 m ve 1149 m yüksekliklerden örneklenmiştir. Kalkerli kayalıklardan örneklenen, 51 m yükseklikteki lokasyona ait bireyler, orman altı, yol kenarı yamaçlardan örneklenen 471 m ve 1149 m yükseklikteki lokasyonlara ait bireylerden, yapılan analizler sonucunda ayrılmıştır. Bu türe ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir.

Alanya Hadim yolu üzerinde 1200-1500 m aralığında lokal endemik yayılış gösteren *O. husnucanbaseri*'ye ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir. Ayrı bir seksiyonda yer alan tür UPGMA ağacında görüldüğü gibi diğer türlerden belirgin olarak ayrılmıştır.

Gündoğmuş (1545 m) ve Akseki (1115 m) lokasyonlarından örneklenen *Origanum bilgeri*'nin, lokal endemik bir tür olarak sadece tip lokasyonu bilinmekteydi. Ancak 1995 yılında yapılan bir çalışma kapsamında Akseki bölgesinde Serebil kuyusu mevkiinde de belirlenmiştir. Her iki lokasyondan da örneklenen *O. bilgeri*'ye ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir.

Antalya'ya endemik bir diğer tür olan *O. minutiflorum*, Antalya'nın batısında Saklıkent (1788 m) ve Kemer (1339 m) bölgelerinden, Antalya'nın doğusunda ise Bozburun Dağı orman yolundan (1332 m) örneklenmiştir. Şekil 4.4'de verilen *O. minutiflorum*'a ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı incelendiğinde de gruplamanın

bu doğrultuda olduğu ve doğudaki Bozburun lokasyonuna ait örneklerin diğer iki lokasyondan ayrıldığı görülmektedir.

Akseki (582 m), Alanya (1041 m) ve Gazipaşa (1372 m) lokasyonlarından toplanan *O. majorana* örneklerine ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir. Antalya'nın kuzeybatısında Elmalı (1037 m) ilçesinden ve güneybatısında Faselis (7 m) ve Kumluca (521 m) ilçesinden örneklenen *O. onites* türüne ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir. Burada da deniz kenarında yer alan Faselis ve Kumluca lokasyonları Antalya'nın iç kısmında yer alan Elmalı lokasyonundan ayrılmıştır. Yükseklik farkı açısından incelendiğinde de Elmalı lokasyonu 1037 m ile diğer iki lokasyondan ayrılmaktadır.

Antalya'nın batısında Kemer (1053 m) ilçesinden ve doğusundan Alanya (1317 m) ve Gazipaşa (1468 m) ilçelerinden örneklenen *O. vulgare* subsp *hirtum*'a ait bootstrap değerleri ve UPGMA ağacı Şekil 4.4'de verilmiştir. Her üç lokasyonda 1000 m'nin üzerindedir, ancak Alanya ve Gazipaşa lokasyonları 1500 m'ye yakın lokasyonlardır. Gerek yükseklik gerekse yöney farkı UPGMA ağacına da yansımıştır.

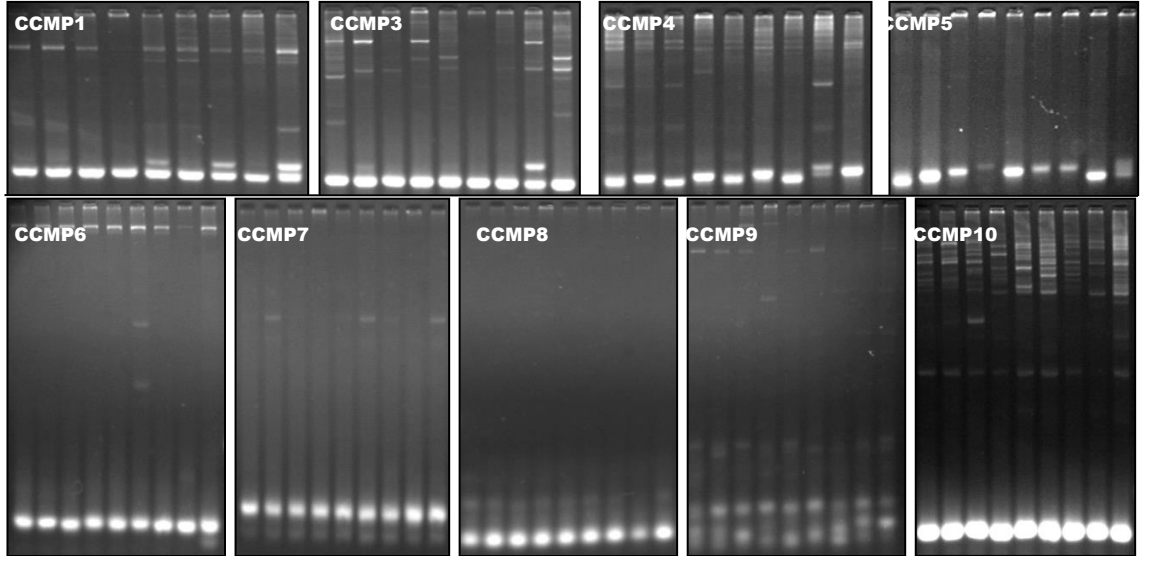
Skoula ve Harborne (2002), yapılmış olan bazı çalışmaların sonuçlarını değerlendirerek *Origanum* cinsini uçucu yağ analizlerine göre 3 ana gruba ayırmışlar ve *Amaracus*, *Anatolicon* ve *Brevifilamentum* seksiyonlarını içeren Grup A'da yer alan türlerin, uçucu yağ verimi yönünden fakir olduğunu bildirmişlerdir. *Amaracus* seksiyonundaki *O. saccatum* ve *O. solymicum* türlerinin *p*-simen içeriği yönünden, *Brevifilamentum* seksiyonunda yer alan *O. husnucanbaseri* türünün ise borneol, sis- ve trans-sabinen hidrat içeriği yönünden zengin olduğunu ve simil bileşikleri yerine sabinil bileşiklerini içerdiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar *Chilocalyx* ve *Majorana* seksiyonlarını içeren Grup B'de yer alan türlerin uçucu yağ verimi yönünden zengin olduğunu bildirmişlerdir. *Chilocalyx* seksiyonunda yer alan *O. minutiflorum* ve *O. bilgeri* türlerinin kavrakrol yönünden zengin, sabinil bileşiklerince fakir olduğu, *Majorana* seksiyonunda yer alan ve Türkiye ve Kıbrıs'tan toplanan *O. majorana*'da kavrakrol içeriğinin, bu tür için karakteristik olan sis-sabinen ve trans-sabinen hidrat bileşiklerinden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. *O. onites* türünde ise kavrakrol,

bisabolen ve geraniol bileşiklerinin karakteristik olduğu ancak saf linalol tipinin yine Türkiye’den kaydedildiğini bildirmişlerdir. *Campanulaticalyx*, *Elongataspica* ve *Origanum* seksiyonlarından oluşan Grup C’de yer alan türlerin halkasız bileşikler ve seskuiterpenoidler yönünden, *Origanum* seksiyonunda yer alan *O. vulgare* taksonlarının ise sabinen bileşikleri yönünden zengin olduğunu belirtmişlerdir. Yukarıda belirtilen bilgiler bu tez çalışmasından elde edilen moleküler gruplama sonuçları ile uyum içerisindedir.

4.5. *Thymus* L. DNA Markır Analizleri

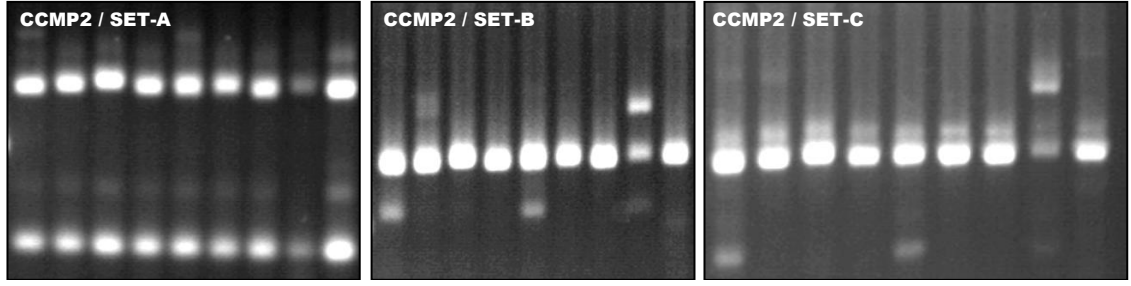
Çalışmada *Origanum* L.’de uygulanan yaklaşıma benzer bir yaklaşım uygulanarak *Thymus* L. tür, alttür ve varyete bazında genomik DNA’ları birleştirilerek tür bazında, lokasyonlardan toplanan örnekler birleştirilerek lokasyon bazında ve her bir genotipin ayrı olarak incelendiği genotip bazında çalışmalar gerçekleştirilmiştir. *Thymus* L. türlerinde daha önceden belirlenmiş SSR primer çiftleri bulunmadığı için SSR çalışmaları kloroplast genomu kullanılarak, tür, ve genotip bazında, CAPS, SCAR çalışmaları tür bazında ve DAMD-PZR çalışmaları lokasyon bazında gerçekleştirilmiştir.

CpSSR çalışmalarında toplam 10 çift primer çifti kullanılarak toplam 9 takson çalışılmıştır. CpSSR primer çiftlerinden CCMP10 ve CCM8 kullanılan türleri birbirlerinden ayırt edememişlerdir (Şekil 4.6).



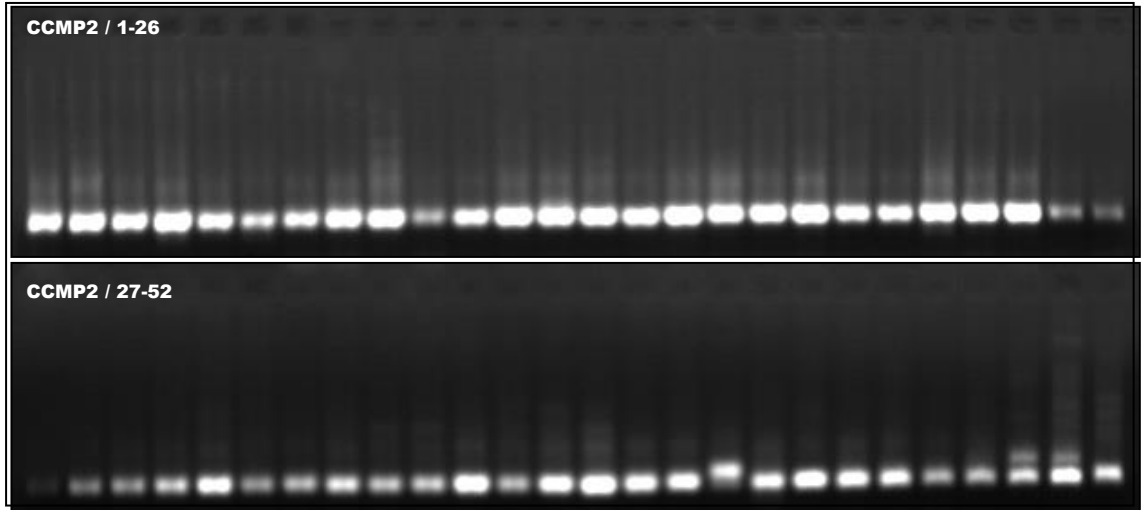
Şekil 4.6. Kloroplast SSR (CpSSR) primer çiftleri ile elde edilen amplikonların agaroz jel görüntüleri

CpSSR primer çiftlerinden CCMP1, CCMP3, CCMP4, CCMP5, CCMP7 ve CCMP9 türler arasında polimorfik amplikonlar üretmişlerdir. CCMP1 beşinci tür olan *T. zygoideus*, yedinci tür olan *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisanus* ve dokuzuncu tür olan *T. longicaulis* subsp. *chaubardi* farklı amplikonlar üreterek türleri birbirlerinden ayırt edebilmişlerdir. CCMP3 primer çifti ise sekizinci tür olan *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* markır üreterek türe özgü kloroplast markırı oluşturmuştur. CCMP6 Primer çifti 9 nolu tür olan *T. longicaulis* subsp. *chaubardi* diğerlerinden ayırabilmiştir. Diğer taraftan CCMP4, CCMP5 primer çiftleri polimorfik markırlar üretebilmişler ancak bu markırların tür teşhisinde kullanılacak çözünürlüğe sahip olmadıkları belirlenmiştir. CpSSR (CCMP2) primer çiftlerinden bir tanesinin büyük boyutta amplikon üretmesi nedeni ile CAPS-Mikrosatellit yöntemine göre analiz edilmiştir (Ince vd 2010). Şekil 4.7’de CpSSR primer çiftinin CAPS-Mikrosatellit yöntemi ile elde edilen amplikonlar gösterilmektedir.



Şekil 4.7. CCMP2 (CpSSR) primer çifti ile enzim setlerinin kullanılması sonucu elde edilen ampliconların agaroz jel görüntüsü

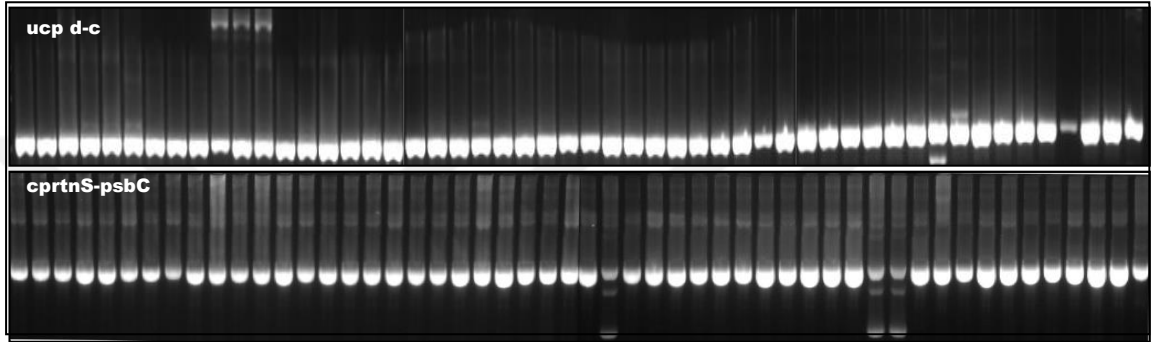
Thymus L. türlerine ait 52 genotip üzerinde CCMP2 primer çiftleri kullanılarak elde edilen ampliconlara ait agaroz jelde görüntü Şekil 4.8’de verilmiştir. Bu jelde de görüldüğü üzere CCMP2 primer çifti bütün DNA’lardan amplicon üretmiş ve ampliconlar 3 farklı patern göstermiştir. Türler içerisinde farklı paternlerin varlığı CCMP2 primer çiftinin türler arasında ilişkilerin saptanmasında kullanılamayacağını göstermiş olmakla beraber bu patern farklılığı, örneklerin karıştırılması, doğal hibritlerin varlığı veya az bir ihtimalle primer çiftlerinin deney hatası olarak karıştırılmış olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle *Thymus L.* taksonlarının detaylı bir şekilde tekrar incelenmesinde yararlar bulunmaktadır.



Şekil 4.8. *Thymus L.*’ye ait DNA örneklerinin CCMP2 primer çifti ile çoğaltılması sonucu elde edilen ampliconlar

Çalışmada mitokondri ve kloroplast genomlarında bulunan lokuslardan yararlanılarak *Thymus L.* türleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla

SCAR yöntemi kullanılmıştır. 8 farklı lokus incelenmiş ve sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde bazı *Thymus* L. türlerine ait genotiplerin diğer tür üyelerinden mitokondri ve kloroplast genomları bakımından farklılık göstermekle (Şekil 4.9) birlikte önemli sayıda lokusun homolog olduğu tespit edilmiştir. Mitokondri ve kloroplast DNA lokusları arasındaki farklılığı ortaya koymak amacıyla SCAR markırları değişik sayıda restriksiyon enzimi (Çizelge 4.6) veya restriksiyon enzim karışımları (Çizelge 4.7) ile kesilerek CAPS markırlarına dönüştürülmüştür.



Şekil 4.9. ucpd-c ve cptrnS-psbC primerleri ile *Thymus* L.'nin 52 genotip DNA'sı çoğaltılarak elde edilen amplikonlar

Çizelge 4.6. Kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma bölgelerinin sekans bilgileri

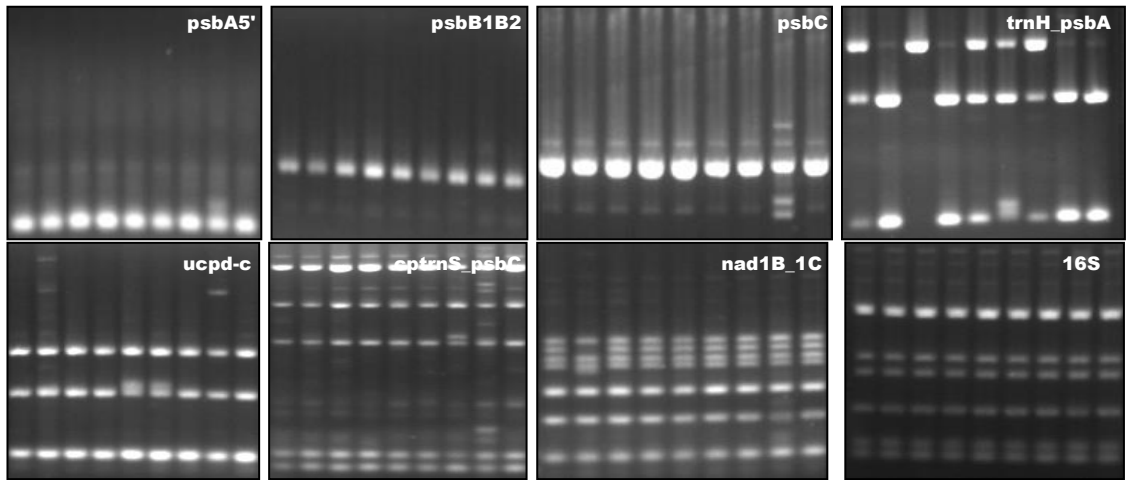
Restriksiyon Enzimi	Tanıma Bölgelerinin Sekans Bilgisi
<i>Aat</i> I	5'-GACGT [^] C-3' 3'-C [^] TGCAG-5'
<i>Bam</i> HI	5'-G [^] GATCC-3' 3'-CCTAG [^] G-5'
<i>Cla</i> I	5'-AT [^] CGAT-3' 3'-TAGC [^] TA-5'
<i>Eco</i> R I	5'-G [^] AATTC-3' 3'-CTTAA [^] G-5'
<i>Hae</i> III	5'-GG [^] CC-3' 3'-CC [^] GG-5'
<i>Hind</i> III	5'-A [^] AGCTT-3' 3'-TTCGA [^] A-5'
<i>Hinf</i> I	5'-G [^] ANTC-3' 3'-CTNA [^] G-5'
<i>Msp</i> I	5'-C [^] CGG-3' 3'-GGC [^] C-5'
<i>Rsa</i> I	5'-GT [^] AC-3' 3'-CA [^] TG-5'
<i>Vsp</i> I	5'-AT [^] TAAT-3' 3'-TAAT [^] TA-5'

Çizelge 4.7. Hazırlanan restriksiyon enzim karışımları

SET-A	SET-B	SET-C
<i>Hind</i> III	<i>Aat</i> III	<i>Hinf</i> I
<i>Hae</i> III	<i>Hinf</i> I	<i>Bam</i> HI
<i>Vsp</i> I	<i>Msp</i> I	<i>Hind</i> III
<i>EcoR</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Cla</i> I

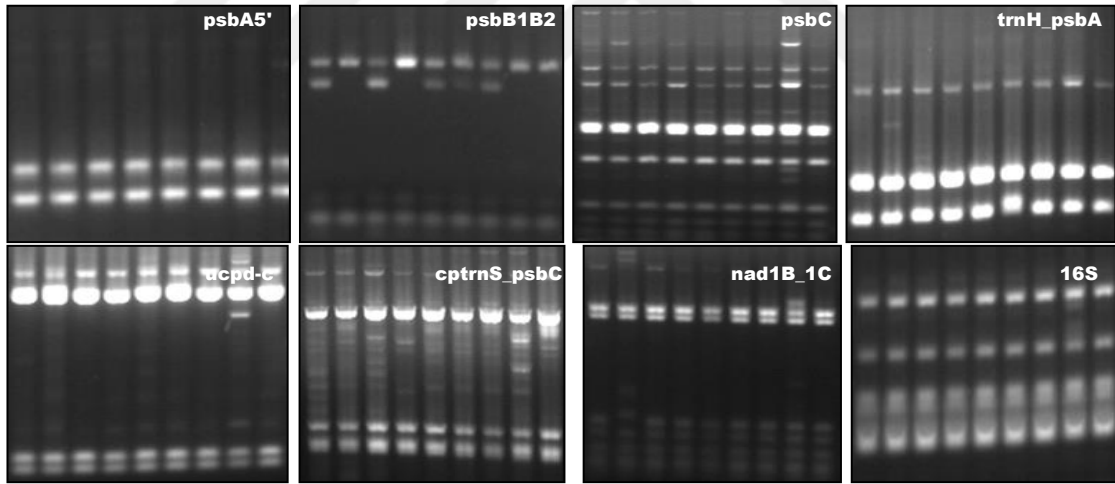
CAPS veya diğer bir adıyla PZR-RFLP yöntemi *Thymus* L.'nin kloroplast ve mitokondri genomlarında kullanılmıştır. Kloroplast ve mitokondri primer çiftleri ile çoğaltılan ampliconlar daha sonra restriksiyon enzimleri ile ayrı ayrı veya restriksiyon enzim kombinasyonları ile kesilerek *Thymus* L. türleri arasındaki genetik ilişkiler araştırılmıştır.

CAPS analizlerinde *Hind* III, *Hae* III, *Vsp* I ve *EcoR* I enzimlerinden meydana gelen SET-A restriksiyon enzim karışımı kullanılarak türlere ait genotiplerin DNA'larının birleştirilmesi ile oluşturulmuş ve primer çiftleri ile çoğaltılmış ampliconların kesimi ile çalışılan türlerin bir kısmına ait türe özgü DNA markırları elde edilmiştir. Değişik primer çiftleri ile çoğaltılan ve restriksiyon enzim karışımları ile elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Bu jel resimleri incelendiğinde, yüksek polimorfizm oranının *trnH-psbA*, *ucpd-c* ve *cptrnS-psbC* primerlerinden elde edildiği görülmektedir. Diğer primer çiftleri ve bu restriksiyon enzim karışımları ise türleri birbirlerinden ayırt edememişlerdir.

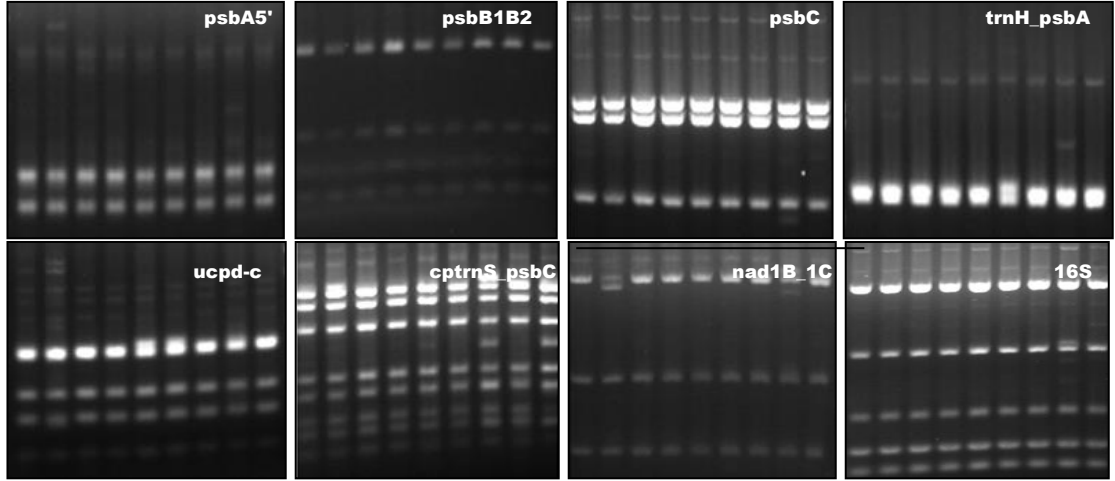


Şekil 4.10. CAPS-SET-A restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jeldeki görüntüleri

Aat III, *Hinf* I, *Msp* I ve *Rsa* I enzimlerinden oluşturulmuş olan SET-B restriksiyon enzim karışımı kullanılarak türlere ait DNA'lar primer çiftleri ile çoğaltılmıştır. Elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 4.11'de verilmiştir. Burada *psb* B1B2, *psbC*, *ucpd-c* ve *cptrnS-psbC* primerleri ile polimorfizm yakalanmıştır. Diğer primerlerde monomorfik yapı değişmemiştir. *Hinf* I, *Bam* HI, *Hind* III ve *Cla* I enzimlerinden meydana gelen SET-C restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri Şekil 4.12'de verilmiştir. Bu enzim karışımında monomorfik yapı genel olarak korunmuştur. Sadece *ucpd-c*, *cptrnS-psbC* ve *nad* 1B-1C primerlerinde polimorfizm oluşturulabilmiştir. Her üç enzim seti (A, B ve C) birlikte değerlendirildiğinde 16S ve *psbA* 5' primerlerinin monomorfik yapıyı etkilemediği görülmektedir. *Ucpd-c* ve *cp-trns-psbc* primerlerininse her üç sette de güzel sonuçlar verdiği dikkat çekmektedir. Diğer primerler, *psb* B1-B2, *psbC*, *trnH-psbA* ve *nad1b-c*, az da olsa bir risk taşımakla beraber çalışmalarda denenerek kullanılabilir oldukları görülmüştür.

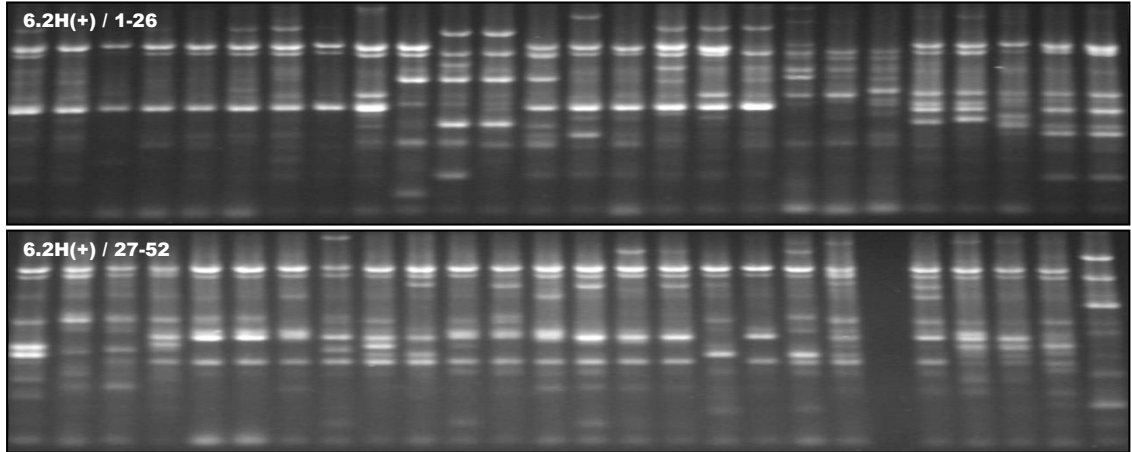


Şekil 4.11. CAPS-SET-B restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA amplikonlarının agaroz jeldeki görüntüleri

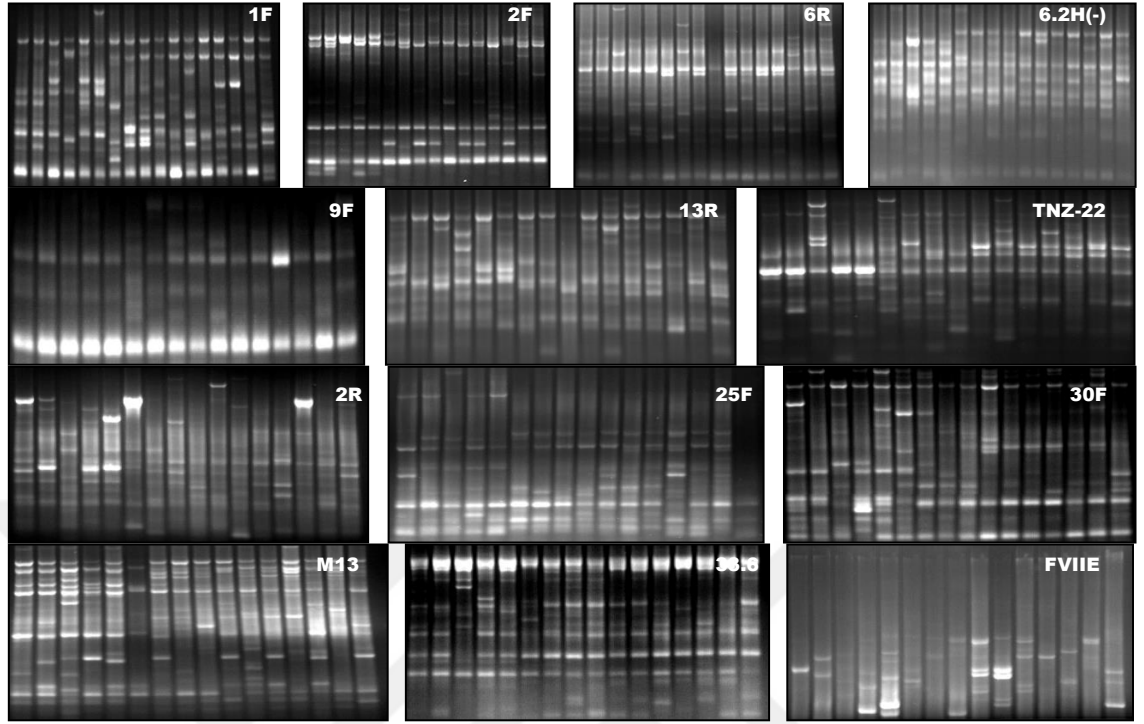


Şekil 4.12. CAPS-SET-C restriksiyon enzim karışımı kullanılarak elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jeldeki görüntüleri

Çalışmada kullanılan bir başka DNA markır tekniği DAMD-PZR olup minisatellit primerlerinin amplifikasyonları ile elde edilmiştir. Bu primerler hem türlere ait bulk DNA'ların hem de lokasyonlara ait bulk DNA'ların çoğaltılmasında kullanılmıştır. *Thymus L.*'nin 52 genotipine ait DNA'ların çoğaltılması sonucu elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jel elektroforesis görüntüleri ise Şekil 4.13'de verilmiştir. 17 lokasyona ait bulk DNA'ların çoğaltılması sonucu elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jel elektroforesis görüntüleri ise Şekil 4.14'de verilmiştir. Agaroz jel görüntülerinden de anlaşılabileceği üzere DAMD-PZR yönteminin DNA ekstraksiyonları iyi olmak şartı ile *Thymus L.* genotiplerinde başarıyla uygulanabileceği belirlenmiştir.



Şekil .4.13. DAMD-PZR'ın *Thymus L.* genotiplerine ait DNA'ların çoğaltılması sonucu elde edilen DNA ampliconlarının agaroz jel elektroforesis görüntüleri



Şekil 4.14. DAMD-PZR'in *Thymus L.* lokasyonlarına ait bulk DNA'lardan elde edilen amplikonların agaroz jel elektroforesis görüntüleri

Çalışmanın *Thymus L.* bölümünde CAPS, CAPS-Mikrosatellit, CpSSR ve DAMD-PZR teknikleri kullanılarak elde edilen veriler birleştirilerek *Thymus L.* türleri (Şekil 4.15) arasındaki ilişkiler Çizelge 4.8'de hesaplanan genetik benzerlik indeksleri kullanılarak oluşturulan ve Şekil 4.16'da sunulan UPGMA ve Şekil 4.17'de sunulan PCO analizleri yardımıyla irdelenmiştir.



Şekil 4.15. Çalışmada kullanılan *Thymus* türlerine ait bazı fotoğraflar; a: *T. cilicicus* b: *T. revolutus* c: *T. cherlerioides* var. *isauricus* d: *T. zygoides* var. *lycaonicus* e: *T. leucotrichus* var. *austroanatolicus* f: *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* g: *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* h: *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus* i: *T. longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*

4.5. *Thymus* L Türlerinin Genetik İlişkileri

Antalya İli'nde yayılış gösteren *Thymus* L. cinsine ait türlerin moleküler ilişkilerinin tespit edilmesi amacıyla elde edilen filogenetik ağaç (Şekil 4.16) değerlendirildiğinde ilk ayrımın *T. cilicicus* ve *T. revolutus*'un bulunduğu dal ile çalışma kapsamında yer alan diğer türlerin birbirinden ayrıldığı görülmektedir. Türlerin evrimsel olarak ilkelden gelişmişe doğru sıralandığı Türkiye Florası'nda da en ilkel türler olan ve bu çalışmada bir ve iki numaralı türler olarak temsil edilen *T. cilicicus* ve *T. revolutus* ülkemize endemik taksonlardır.

Ülkemizde yayılış gösteren *Thymus* türlerini birbirinden ayıran en önemli taksonomik karakterler; bitkinin genel formu, yaprakların en-boy oranı, yaprak kenarlarının geriye kıvrık olup olmaması, yağ damlacıklarının yoğunluğu ve rengi, tüy yapısı ve şekli, çiçek düzeni ve braktelerin yapraklara benzerliği veya farklılığıdır.

T. cilicicus yarı çalimsı ve yastık formundadır. Bunun yanında ana dalların yaprak kenarlarının düz, yanal demet yapraklarının kenarda kıvrık olmasıyla karakterizedir. Bu türe yakınlığıyla bilinen *T. revolutus* ise ilk bakışta *T. cilicicus*'dan tüm yapraklarının kenarda kıvrık olmasıyla ayrılmaktadır. Bunun yanında her iki türün yağ damlacıkları yoğunken bu damlacıklar *T. revolutus*'da turuncu veya kırmızı renkli, *T. cilicicus*'da ise sarımsı renklidir. Bu iki türün Nei & Li benzerlik katsayısı 0.903'tür (Çizelge 4.8). Çalışma kapsamında yer alan türler içerisinde ayrı bir grup oluşturan bu iki türün yakınlığını Şekil 4.17'de sunulan PCO grafiği de desteklemektedir.

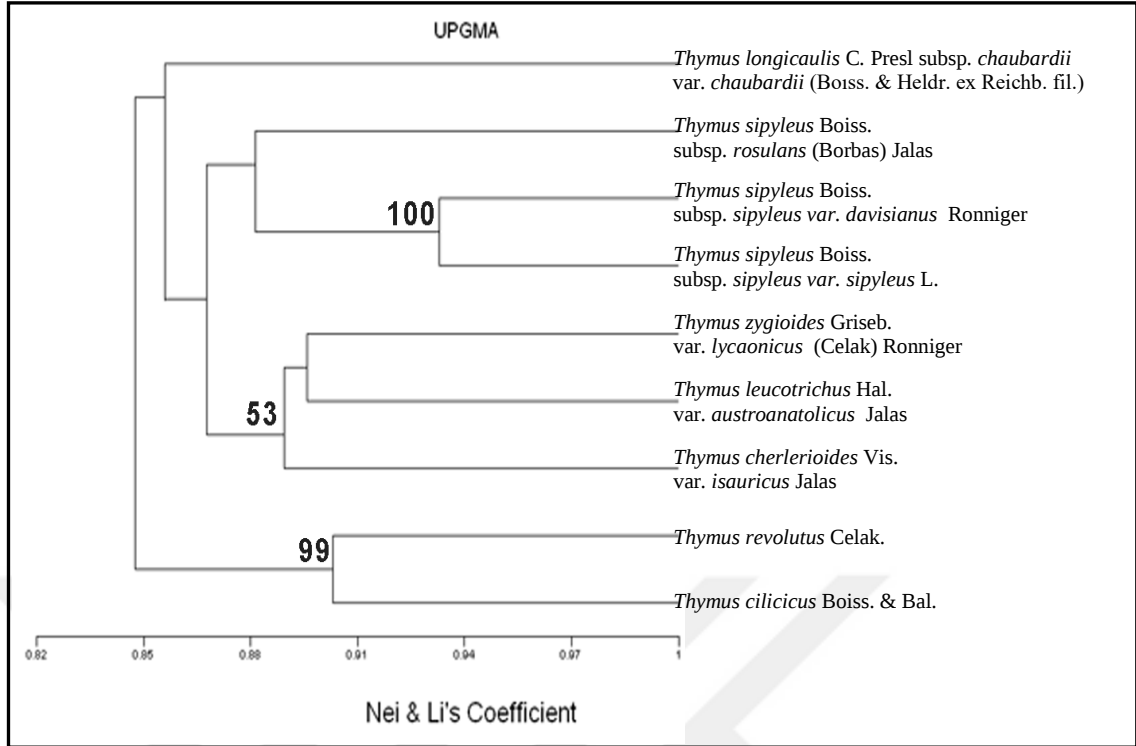
Antalya İli'nde yayılış gösteren *Thymus* türleri içerisinde yaprak kenarlarının kıvrıklığıyla teşhis edilebilen diğer türler *T. cherlerioides* ve *T. leucotricus* türleridir. Filogenetik ağaçta bir önceki dallanmada ayrılan *T. revolutus* ve *T. cilicicus* ile *T. cherlerioides* ve *T. leucotricus* türlerini birbirinden ayıran en önemli taksonomik karakter braktelerin yapraklara olan benzerlik ve farklılığında görülmektedir. *T. revolutus* ve *T. cilicicus* türlerinde brakteler yaprakların en az iki katı genişliğindeyken *T. cherlerioides* ve *T. leucotricus* türlerinde ise brakteler yapraklara benzemektedir. Bunun yanında *T. cherlerioides*, *T. leucotricus* türünden yapraklarının şeritsi şekilli, kadifemsi tüylü olmasıyla ve brakteollerinin 5 mm'ye kadar uzamasıyla ayrılmaktadır. Bu karakterler *T. leucotricus* türünde yaprakların şeritsi-mızraksı şekilli, daha uzun tüylü (var. *austroanatolicus*) ve brakteollerin 1-2.5 mm uzunluğunda olması şeklinde gözlenmektedir.

Bu karakterlerin yanında *T. leucotricus* türü tüy karakterleri olarak oldukça varyasyon göstermektedir. Bunun yanında yaprakların boyutu yönüyle diğer türlerle ve tür gruplarıyla geçiş karakterleri taşımaktadır. *T. leucotricus* türü *Thymus* türlerini birbirinden ayıran yaprak kenarlarının kıvrıklığı yönünden de varyasyonlar göstermektedir. Zira bu türde yaprak kenarları hafifçe kıvrık olabildiği gibi kenarlarda kalınlaşmayla birlikte görülen yapay kıvrıklık söz konusudur. Bu durum yaprakların en boy oranının, yaprak kenarlarındaki kıvrıklığa nazaran daha baskın bir karakter olarak görülmesini sağlamaktadır. Zira filogenetik ağaçta bu dalda ilk ayırım *T. leucotricus* ile *T. zygoides* arasında görülmektedir. Buna göre *T. zygoides* türü *T. leucotricus* türüne, *T. cherlerioides* türünden daha yakındır. Türkiye Florası teşhis anahtarında da *T.*

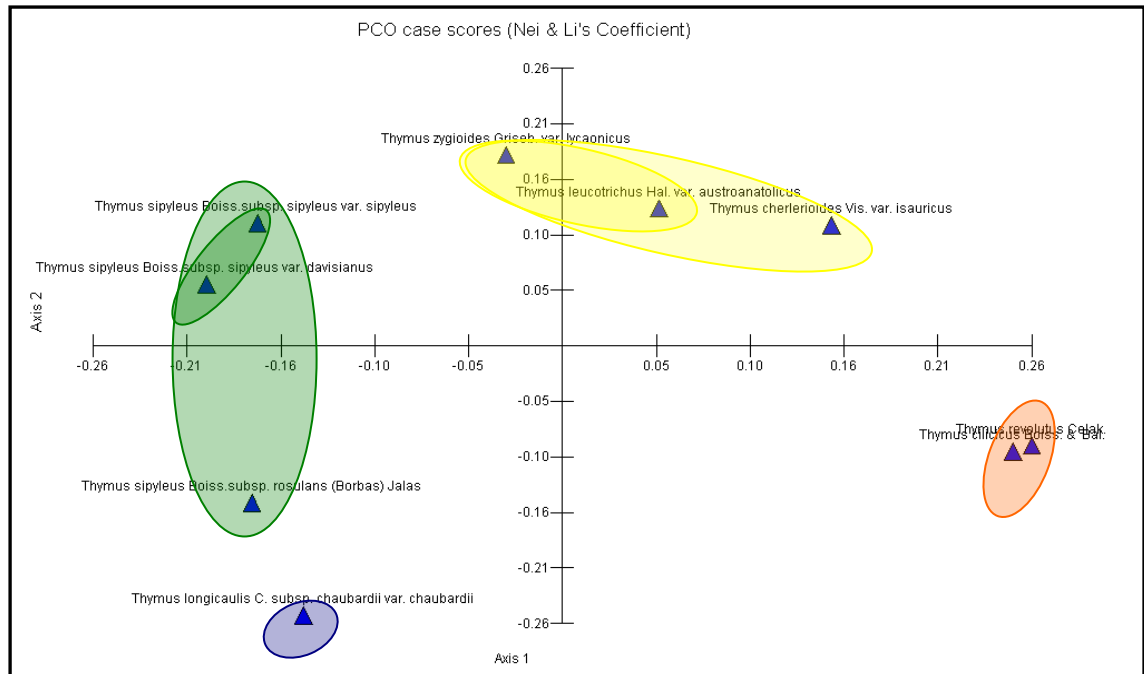
leucotricus türü, anahtarın hem yaprak kenarlarında kıvrık özelliğinden hem de kenarlarda düz özelliğinden teşhis edilebilmektedir.

Çalışma kapsamında yer alan bir diğer tür araştırma alanımızda üç taksonla temsil edilen *T. sipyleus* türüdür. Bu tür gövde yapraklarının şekline ve çiçek durumlarının yoğunluğuna göre iki alttüre ayrılmaktadır. Bunlardan *T. sipyleus* subsp. *rosulans* alttürü daha geniş bir yayılış alanına sahip olup ülkemize endemik değildir. *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* alttürü ise ülkemize endemik iki varyeteye temsil edilmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen filogenetik ağaç değerlendirildiğinde ilk ayrımın gövde yapraklarının mızraksı veya hemen hemen şeritsi yapısıyla ve çiçek durumunun çok çiçekli olmasıyla karakterize olan *T. sipyleus* subsp. *rosulans* alttüründe olduğu görülmektedir. Bu alttür, türe ait diğer alttüre bağlı varyetelerden ayrı bir dalda oluşmaktadır. Bu durumu Şekil 4.17’de sunulan PCO grafiği de desteklemektedir. *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* yapraklarının tüysüz veya üst kısımda kısa tüylü alt kısımda tüysüz olmasıyla karakterizedir. Bunun yanında diğer varyete olan *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus*’da yapraklar her iki yüzeyinde de tüylüdür. Bu iki varyete çalışma sonucunda elde edilen filogenetik ağaçta %100 bootstrap değeriyle birbirinden ayrılmaktadır.

Şekil 4.17’de özellikle *T. revolotus* ve *T. cilicicus*’un birbirine olan yakınlığı ve gruptan ayrılmış olmaları dikkat çekmektedir. Bu durum UPGMA analizinden elde edilen dendogram ile de paralellik göstermektedir. Bunun gibi iki gruplaşma daha dikkat çekmektedir. Gruplardan biri *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* türüne ait üç varyeteyi (var. *sipyleus*, var. *davisianus* ve var. *rosulans*) kapsamaktadır. Bu üç varyeteden var. *sipyleus* ve var. *davisianus* birbirine daha yakın konumdayken var. *rosulans* bu gruba dışarıdan dahil olmuştur. Diğer grup ise *T. zygoideus*, *T. leucotrichus* ve *T. cherlerioides* var. *isauricus* taksonlarından oluşmuştur. *T. longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* taksonu ise tek başına ayrılmıştır.



Şekil 4.16. *Thymus* taksonlarının Nei & Li benzerlik matrisi temel alınarak oluşturulmuş UPGMA ağacı. (Dallar üzerindeki rakamlar 2000 tekrarlı bootstrap frekans değerlerini göstermektedir.)



Şekil 4.17. *Thymus* L. taksonlarına ait PCO grafiği

Çizelge 4.8.'de türler arası benzerlik indeksi verilmiştir. En yüksek değer *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* alttürünün iki varyetesi arasındadır. 0.933 benzerlik indeksine sahip olan var. *sipyleus* ve var. *davisanus*'u 0.903 değeri ile *T. cilicicus* ve *T. revolutus* takip etmektedir. *T. revolutus* ve *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* arasındaki benzerlik indeksi değeri ise 0.827 ile en düşük olandır. *T. longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* ve *T. revolutus* arasındaki 0.829 benzerlik indeksi değeri ise ikinci sırada yer almaktadır.

Çizelge 4.8. *Thymus* L. taksonlarına ait benzerlik indeksi

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
<i>T. cilicicus</i> (1)	1.00								
<i>T. revolutus</i> (2)	0.90	1.00							
<i>T. cherlerioides</i> var. <i>isauricus</i> (3)	0.88	0.88	1.00						
<i>T. leucotrichus</i> var. <i>austroanatolicus</i> (4)	0.86	0.86	0.89	1.00					
<i>T. zygoides</i> var. <i>lycaonicus</i> (5)	0.85	0.85	0.89	0.90	1.00				
<i>T. sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>sipyleus</i> (6)	0.84	0.84	0.87	0.87	0.89	1.00			
<i>T. sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>davisanus</i> (7)	0.84	0.84	0.86	0.87	0.89	0.93	1.00		
<i>T. longicaulis</i> subsp. <i>chaubardii</i> var. <i>chaubardii</i> (8)	0.83	0.83	0.83	0.85	0.85	0.86	0.87	1.00	
<i>T. sipyleus</i> subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>rosulans</i> (9)	0.84	0.83	0.85	0.85	0.86	0.87	0.89	0.87	1.00

5. SONUÇ

Diğer tıbbi ve aromatik bitkilerin bir kısmında olduğu gibi *Origanum* ve *Thymus* cinslerine ait taksonlarda da yüksek polisakkarit içeriği bulunmakta olup bu durum DNA analizlerinde sorunlar oluşturmaktadır. Bundan sonraki çalışmalarda CTAB tabanlı yöntemlerin lityum klorit desteği ile gerçekleştirilmesi ve dokuların 65°C' de 2-3 saat bekletilerek polisakkaritlerin uzaklaştırılması gerektiği tespit edilmiştir. Alternatif bir yöntem olarak ise; polisakkarit ve fenolik bileşiklerin oranını azaltacağından, doku örneklerinin sabahın erken saatlerinde ve bitkilerin çiçeklenme dönemi öncesi evrelerinde toplanması tavsiye edilmiştir (Henry 2001).

Araştırmada *Thymus* L. cinsinden 9 ve *Origanum* L. cinsinden ise 8 olmak üzere toplam 17 takson çalışılmıştır. Toplam 63 *Origanum* L. genotipi 21 EST-SSR primer çifti kullanılarak oluşturulmuş olan yaklaşık 200 adet SSR markırı ve bir kloroplast spesifik primer çifti ile oluşturulan 3 SCAR markırı kullanılarak çalışılmıştır. Toplam 52 *Thymus* L. genotipi ise CAPS-Mikrosatellit, SCAR, CAPS, CpSSR ve DAMD-PZR markır teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Bu çalışmada *Origanum saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. bilgeri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* türleri çalışılmış olup bu türlerin seksiyon ve lokasyon bazında sahip oldukları genetik ilişkiler saptanmıştır. Belirlenmiş olan genetik ilişkiler morfolojik temelde yapılan taksonomik sıralama ile tam olarak uyum içerisinde. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler doğrultusunda doğal florada bulunan üstün özellikli genotiplerin seleksiyonu ve çoğaltılması, gerçekleştirilecek ıslah çalışmalarında melezleme kombinasyonuna ait genetik farklılık oranlarının belirlenmesi, doğal gen kaynaklarının korunması ve bulunan germplasm kaynaklarındaki tekrarlanma oranının azaltılması açısından önem taşımaktadır.

Origanum cinsine ait taksonlar, analizler sonucunda *Amaracus*, *Brevifilamentum*, *Chilocalyx*, *Majorana*, *Origanum* olmak üzere 5 farklı seksiyon düzeyinde gruplanmıştır. DNA analizinden elde edilen dendograma göre *Origanum* L. türlerinin dağılımının, morfolojik ayırım esasları ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Analizler sonucunda bazı türlerin lokasyonları arasında veya aynı lokasyonda yer alan

genotiplerin kendi aralarında farklılıklar gösterdikleri belirlenmiştir. Çalışılan her bir türde oldukça yüksek düzeyde varyasyonun varlığı ve genetik heterozigotluğun yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı türe ait farklı lokasyonlarda veya aynı lokasyonda gözlenen genetik varyasyonun çeşitli seviyelerde görülmesinde coğrafik ve ekolojik faktörlerin de önemli bir rolü olduğu görülmüştür.

Origanum türlerinin ayrımında kullanılabilecek DNA markırları belirlenmiştir. Bu markırlar yardımı ile taksonomik yönden ayrımında sorun yaşanan türlerin tespiti daha kolay olacaktır. Çalışma kapsamında *Origanum saccatum*, *O. solymicum*, *O. husnucanbaseri*, *O. minutiflorum*, *O. majorana*, *O. onites* ve *O. vulgare* subsp. *hirtum* türlerine özgü DNA markırları geliştirilmiştir. Ancak bu markırların yayınlanmadan önce araziden toplanacak yeni örnekler üzerinde uygulanarak doğruluklarının kontrol edilmesi gerekmektedir.

Çalışmada *Thymus* L. taksonlarından *T. cilicicus*, *T. revolotus*, *T. cherlerioides* var. *isauricus*, *T. leucotricus* var. *austroanatolicus*, *T. zygoideus* var. *lycaonicus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus*, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* ve *T. longicaulis* kullanılmıştır. *Thymus* L. Lamiaceae familyasının en problemli cinslerinden birisidir. Yağış, sıcaklık, nem gibi iklimsel etmenler, toprak yapısı ve nemi, arazinin eğimi gibi faktörlerden etkilenmektedir. Ginodioiklik, kimyasal polimorfizm ve kolayca melez oluşturma özellikleri de eklenince ortaya aşırı varyasyon çıkmaktadır. Bu çalışmada da yapılan DNA analizleri sonucunda *Thymus* L. tür içi ve türler arasındaki genetik farklılığın yüksek düzeyde olduğu DAMD-PZR analizleri ile ortaya konmuştur. *Thymus* L. taksonlarının genetik ilişkilerinin ortaya konması amacıyla daha az değişken olan kloroplast ve mitokondri lokusları kullanılmıştır. *Thymus* L. taksonlarının kloroplast ve mitokondri lokuslarında da DNA düzeyinde varyasyonun varlığı gözlenmiş ancak bu varyasyonun morfolojik gözlemlerle ortaya konulmuş olan taksonomik sıralamaya uymadığı tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen verilere dayanarak *Thymus* L. genotiplerinin bir arada incelendiğinde taksonomik sıkıntının bulunduğu ve bu nedenle ileriki çalışmalarda sadece Antalya İl sınırları değil bütün Türkiye genelinden toplanan örneklerin ITS, *MatK* ve mikrosatellit markırları

yardımla tekrar analiz edilmesi gerektiği öngörölmüştür.



6. KAYNAKLAR

- AKÇİN, T.A. 2006. Numerical taxonomic studies on some species of the *genus Thymus* L. (Labiatae) in Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5: 782-788.
- AKKAYA, M.S., BHAGWAT, A.A. and CREGAN, P.B. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 134: 1131-1139.
- AKYALCIN, H. 2003. Pollen morphology of *Origanum* L. (Labiatae) taxons in Türkiye. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2: 28-41.
- ARI, Ş. 2004. DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması. Temizkan, G., Arda, N (Editörler), Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGE) Yayın No: 2. Nobel Tıp Kitabevleri, ss. 101-120, İstanbul.
- ARSLAN, N., GÜRBÜZ, B. and IPEK, A. 2001. The Cultivation and Breeding Studies on Some Medicinal and Aromatic Plants in Ankara Conditions. In: M. Özgüven (Editor), Proceedings of the Workshop on Agricultural and Quality Aspects of Medicinal and Aromatic Plants, (May 29-June 01, 2001), pp. 17-27, Adana/TURKEY.
- ARSLAN, N., GÜRBÜZ, B. ve GÜMÜŞÇÜ, A. 2002. Tıbbi Bitkiler Kılavuzu, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1530, Yardımcı Ders Kitabı, Ankara, 180 ss.
- AYANOGLU, F., ERGUL, A. and ARSLAN, M. 2006. Assessment of genetic diversity in Turkish oregano (*Origanum onites* L.) germplasm by AFLP analysis. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81: 45-50.

- AYDIN, S.Ö. 2004. RAPD (Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA) belirleyicileri ve bitki sistematiği. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6: 113-130.
- AZIZI, A., WAGNER C., HONERMEIER, B. and FRIEDT, W. 2009. Intraspecific diversity and relationship between subspecies of *Origanum vulgare* revealed by comparative AFLP and SAMPL marker analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 281:151-160.
- BACHMANN, K. 1993. Molecular markers in plant ecology. *New Phytologist*, 126: 403-418.
- BANTTE, K. and PRASANNA, B.M. 2003. Simple sequence repeat polymorphism in Quality Protein Maize (QPM) lines. *Euphytica*, 129: 337-344.
- BAŞER, K.H.C. 1993. Essential oils of Anatolian Labiatae: A Profile. *Acta Horticulturae*, 333: 217-237.
- BAŞER, K.H.C. 1994. Essential oils of Labiatae from Turkey. Recent results. *Lamiales Newsletter*, 3: 6-11.
- BAŞER, K.H.C. 1998. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı. TAB Bülteni, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 13: 19-43.
- BAŞER, K.H.C. 2002. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry*, 74: 527-547.
- BAYDAR, H. 2002. Isparta koşullarında İzmir kekiğinin (*Origanum onites* L.) verimi ve uçucu yağ kalitesi üzerine araştırmalar. *Süleymen Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6: 17-24.

- BAYDAR, H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi, S.D.Ü. Ziraat Fakültesi, SDÜ Yayın No:51, Isparta, 216 ss.
- BAYTOP, T. 1999. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul, 480 ss.
- BAZINA, E., MAKRIS, A., VENDER, C. and SKOULA, M. 2002. Genetic and chemical relations among selected clones of *Salvia officinalis*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9: 269-273.
- BELHASSEN, E., ATLAN, A., COUVET, D., GOUYON, P.H. and QUETIER, F. 1993. Mitochondrial genome of *Thymus vulgaris* L. (Labiatae) is highly polymorphic between and among natural populations. *Heredity*, 71: 462-472.
- BERTEA, C.M., LUCIANO, P., BOSSI, S., LEONI, F., BAIOCCHI, C., MEDANA, C., AZZOLIN, C.M.M., TEMPORALE, G., LOMBARDOZZI, M.A. and MAFFEI, M.E. 2006. PCR and PCR-RFLP of the 5S-rRNA-NTS region and salvinin A analyses for the rapid and unequivocal determination of *Salvia divinorum*. *Phytochemistry*, 67: 371-378.
- BOTSTEIN, D., WHITE, R., SKOLNICK, M. and DAVIS, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- BRETTING, P.K. and WIDRLECHNER, M.P. 1995. Genetic markers and horticultural germplasm management. *HortScience*, 30: 1349-1356.
- CEYLAN, A., BAYRAM, E., SAHBAZ, N., OTAN, H. and KARAMAN, Ş. 2003. Yield performance and essential oil composition of individual plants and improved clones of *Origanum onites* L. grown in the Aegean region of Turkey. *Israel Journal of Plant Science*, 51: 285-290.

- CINAR, A., ELMASULU, S., INCE, A.G., KARACA, M., ONUS, A.N. and TURGUT, K. 2009. A Suitable DNA marker technique (Minisatellites) for *Sideritis* (Lamiaceae) genotyping studies. *Acta Horticulture*, 826: 439-446.
- CLOUTIER, S. and LANDRY, B.S. 1994. Molecular markers applied to plant tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 30: 32-39.
- CRAWFORD, D.J. 2000. Plant macromolecular systematics in the past 50 years: One view. *Taxon*, 49: 479-501.
- CREGAN, P.B. 1992. Simple Sequence Repeat DNA Length Polymorphisms. *Probe*, 2: 18-22.
- ÇEPEL, N. 1997. Biyoçeşitlilik Önemi ve Korunması, Türkiye Erizyonla Mücadele, Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı Yayınları: 15, İSTANBUL, 40 ss.
- DAVIS, P.H. 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 7, Edinburgh University Press., Edinburgh.
- DAVIS, P.H., MILL R.R. and TAN, K. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. I), Vol 10, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- DEVOS, K.M. and GALE, M.D. 1992. The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 84: 567-572.
- DIĞRAK, M. ve İLÇİM, A. 2002. Sistematğin Esasları. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ders Notu, 71ss.
- DOYLE, J. J. and. DOYLE, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.

- ECHEVERRIGARAY, S., AGOSTINI, G., ATTI-SERFINI, L., PAROUL, N., PAULETTI, G.F. and ATTIDOS-SANTOS, A.C. 2001. Correlation between the chemical and genetic relationships among commercial Thyme cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4220-4223.
- FRANZ, C. and NOVAK, J. 2002. Breeding of Oregano. In: Spiridon E. Kintzios (Editor), *Oregano: The genera Origanum and Lippia*. Taylor & Francis, pp. 163-174, London.
- GOLEMBIEWSKI, R.C., DANNEBERGER, T.K. and SWEENEY, P.M. 1997. Potential of RAPD markers for use in the identification of creeping bentgrass cultivars. *Crop Science*, 37: 212-214.
- GOUNARIS, Y., SKOULA, M., FOURNARAKI, C., DRAKAKAKI, G., and MAKRIS, A. 2002. Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum xintercedens* to its parental taxa in the island of Crete. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 249–258.
- GÖNÜZ, A. and ÖZGÖRÜCÜ, B. 1999. An investigation on the morphology, anatomy and ecology of *Origanum onites* L. *Turkish Journal of Botany*, 23: 19-32.
- GÜLŞEN, O. ve MUTLU, M. 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4: 27-37.
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T. and BAŞER, K.H.C. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. II), 11, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- HENRY, R. J. 2001. Plant DNA extraction. In R. J Henry (Editor), *Plant Genotyping the DNA Fingerprinting of Plants 1*, CABI Publishing, pp. 239-249, Oxon, U.K.
- HOAREAU, L. and DASILVA, J. 1999. Medicinal plants: A re-emerging health aid. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2: 51-55.

- HODKINSON, T.R., RENVOIZE, S.A., NICHONGHAILE, G., STAPLETON, M.A. and CHASE, M.W. 2000. A comparison of ITS nuclear rDNA sequence data and AFLP markers for phylogenetic studies in *Phyllostachys* (Bambusoideae, Poaceae). *Plant Research* 113; 259-269.
- HOLTON, T.A. 2001. Plant Genotyping by Analysis of Microsatellites. CAB International Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants (ed. R.J. Henry), pp 1-321.
- HOSTETTMANN, K. and MARSTON, A. 2002. Twenty years of research into medicinal plants: Results and perspectives. *Phytochemistry Reviews*, 1: 275-285.
- HOUMANI, Z., SAMIR, A., GEORGE, N. and MELPOMENI, S. 2002. The essential oil composition of algerian zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9: 275-280.
- IETSWAART, J. H. 1982. *Origanum* L. In: Davis, P.H. (Editor), Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 7:349-382, Edinburgh University Press., Edinburgh.
- INCE, A., KARACA, M., ONUS, A.N. and BILGEN, M. 2005. Chloroplast *MatK* gene phlogeny of some important species of plants. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18: 157-162.
- INCE, A.G., KARACA, M. and ONUS, A.N. 2008. Digital differential display tools for mining microsatellite containing organism, organ and tissue. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 94: 281-290.
- INCE, A.G., KARACA, M. and ONUS, A.N. 2009a. Development and utilization of diagnostic DAMD-PCR markers for *Capsicum* accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56: 211-221.

- INCE, A.G, ELMASULU, S., CINAR, A., KARACA, M., ONUS, A.N. and TURGUT, K. 2009b. Comparison of DNA Marker Techniques for Lamiaceae. *Acta Horticulture*, 826: 431-438.
- INCE, A.G., KARACA, M. and ONUS, A.N.2010. CAPS-microsatellites: use of CAPS method to convert non-polymorphic microsatellites into useful markers. *Molecular Breeding*, 25: 491-499.
- JALAS J. 1982. *Origanum* L. In: Davis, P.H. (Editor), Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol 7:297-313, Edinburgh University Press., Edinburgh.
- JAVORNIK, B. 2002. Molecular tools for determining genetic variability Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants pp.146 First Meeting, 12–14 September 2002, Gozd Martuljek, Slovenia.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F and DONOGHUE, M.J. 2007. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. 3rd Edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. 565 pp.
- KARACA, M., SAHA, S., ZIPF, A., JENKINS, J.N. and LANG, D.J. 2002. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.): Evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting. *Crop Science*, 42: 2118-2127.
- KARACA, M., INCE A.G., ELMASULU, S.Y., ONUS, A.N., TURGUT, K. 2005. Coisolation of genomic and organelle DNAs from 15 genera and 31 species of plants. *Analytical Biochemistry*, 343: 353–355.
- KARACA, M., INCE, A.G., AY, S.T., TURGUT, K. and ONUS, A.N. 2008. PCR-RFLP and DAMD-PCR genotyping for *Salvia* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 2508-2516.

- KARACA, M. and INCE, A.G. 2008. Minisatellites as DNA markers to classify bermudagrasses (*Cynodon* spp.): Confirmation of minisatellite in amplified products. *Journal of Genetics*, 87: 83-86.
- KATSIOTIS, A., NIKOLOUDAKIS, N., LINOS, A., DROSSOU, A. and CONSTANTINIDIS, T. 2009. Phylogenetic relationships in *Origanum* spp. based on rDNA sequences and intra-genetic variation of Greek *O. vulgare* subsp. *hirtum* revealed by RAPD. *Scientia Horticulturae*, 121: 103-108.
- KAUFMAN, M. and WINK, M. 1992. Molecular systematics of Lamiaceae: determination of RBCL sequences of 4 taxa. *Plant Molecular Evolution News Letter*, 2: 17-20.
- KAUFMAN, M. and WINK, M. 1994. Molecular systematics of the Nepetoideae (Family Labiatae): Phylogenetic implications from rbcL gene sequences. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 49: 635-645.
- KAUFMAN, B., RICHARDS, S. and DIERING, D.A. 1999. DNA isolation method for high polysaccharide *Lesquerella* species. *Industrial Crops and Products*, 9: 111-114.
- KILINÇ, M. ve KUTBAY, H.G. 2007. Bitki Coğrafyası. Palme Yayınları: 446, 301 ss.
- KLOCKE, E., LANGBEHN, J., GREWE, C. and PANK F. 2002. DNA fingerprinting by RAPD on *Origanum majorana* L. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9: 171-176.
- KOFIDIS, G., BOSABALIDIS, A.M. and MOUSTAKAS, M. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany*, 92: 635-645.

- KOKKINI, S. 1996. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, 2-12 pp.
- KOKKINI, S. 1997. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: S. Padulosi (Editor) Oregano. Proceeding of the IPGRI International Workshop on Oregano, 8-12 May 1996, pp. 2-12. Valenzano (Bari), Italy. Rome.
- KUMAR, R. 1989. The technique of polymerase chain reaction. *A Journal of Methods in Cell and Molecular Biology*, 1:133-152.
- LI, S., HAN, Q., QIAO, C., SONG, J., LUNG, C. and XU, H. 2008. Chemical markers for the quality control of herbal medicines: An overview. *Chinese Medicine*, 3: 1-16.
- LINHART, Y.B. and THOMPSON, J.D. 1999. Thyme is of the essence: Biochemical polymorphism and multi-species deterrence. *Evolutionary Ecology Research*, 1:151-171.
- LITT, M. and LUTY, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle action gene. *The American Journal of Human Genetics*, 44: 397-401.
- MAGUIRE, T.L. 2001. Producing and Exploiting Enriched Microsatellite Libraries. In: R.J. Henry (Editor), Plant Genotyping the DNA Fingerprinting of Plants 1, CABI Publishing, pp. 193-209, Oxon, U.K.
- MAKRI, O. 2002. Cultivation of oregano. In: Spiridon E. Kintzios (Editor), Oregano: the genera *Origanum* and *Lippia*. Taylor & Francis, pp. 153-162, London.

- MANIATIS, T., FRITSCH, E.F. and SAMBROOK, J. 1982. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor New York 134 pp.
- MANICACCI, D., COUVET, D., BELHASSEN, E., GOUYON, P.H. and ATLAN, A. 1996. Founder effects and sex ratio in the gynodioecious *Thymus vulgaris* L. *Molecular Ecology*, 5: 63-72.
- MANICACCI, D., ATLAN, A., ROSSELLO, J.A.E. and COUVET, D. 1998. Gynodioecy and reproductive trait variation in three *Thymus* species (Lamiaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 159: 948-957.
- MANLY, B.F.J. 1994. Multivariate Statistical Methods: A Primer. Second edition: Chapman & Hall, London, 215 pp.
- MESSEGUE, M. 1998. Hayat Veren Şifalı Otlar, II. Baskı, AD Yayıncılık A.Ş., İstanbul, 332 ss.
- MEWES, S., HANS-KRUGER, H. and PANK, F. 2008. Physiological, morphological, chemical and genomic diversities of different origins of Thyme (*Thymus vulgaris* L.), *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 1303-1311.
- MORGANTE, M. and OLIVIERI, A.M. 1993. PCR-Amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant Journal*, 3: 175-182.
- MULLIS, K.B. and FALOONA, F. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335-350.
- NOVAK, J., GIMPLINGER, D. and FRANZ, C. 2002. Inheritance of calyx shape in the genus *Origanum* (Lamiaceae). *Plant Breeding*, 121: 462-463.

- NOVAK, J., LUKAS, B., BOLZER, K., GRAUSGRUBER, S.G. and DEGENHARDT, J. 2008. Identification and characterization of simple sequence repeat markers from a glandular *Origanum vulgare* expressed sequence tag. *Molecular Ecology Resources*, 8: 599-601.
- ONARICI S. G. ve SÜMER, S. 2003. Protein and DNA in systematic biology. *Turkish Journal Biology*, 27: 47-55.
- POREBSKI, S., BAILEY, L.G., BAUM, B.R., 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15: 8-15.
- RODER, M.S., PLASCHKE, J., KONIG, S.U., BORNER, A., SORRELS, M.E., TANKSLEY, S.D. and GANAL, M.W. 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 246: 327-333.
- ROSSETTO, M. 2001. Sourcing of SSR Markers from Related Plant Species. In R. J Henry (Editor), *Plant Genotyping the DNA Fingerprinting of Plants 1*, CABI Publishing, pp. 211-224, Oxon, U.K.
- SAGHAI-MAROOF, M.A., BIYASHEV, R.M., YANG, G.P., ZANG, Q. and ALLARDS, W. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 5466-5470.
- SAIKI, R.K., GELFAND, D.H., STOFFEL, S., SCHARF, S.J., HIGUCHI, R., HORN, G.T., MULLIS, K.B. and ERLICH, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491.

- SARI, A.O. ve OĞUZ, B. 2002. Kekik. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları: 108, İzmir, 82 ss.
- SCARAFANI, A. and DURANTI, M. 2001. An approach to critical assesment of the experimental conditions in practical molecular biology: Isolation of plant DNA. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 29: 21-23.
- SCOTT, K.D. EGGLER, P., SEATON, G., ROSSETTO, M., ABLETT, E.M., LEE, L.S. and HENRY, R.J. 2000. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 723-726.
- SCOTT, K.D. 2001. Microsatellites Derived from ESTs, and their Comparison with those Derived by Other Methods. In: R.J. Henry (Editor), Plant Genotyping the DNA Fingerprinting of Plants 1, CABI Publishing, pp. 225-237, Oxon, U.K.
- SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L.ve LEBLEBİCİ, E. 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematigi Ders Kitabı, 4. Baskı. Ege Üniv. Fen Fak. Ders Kitapları Serisi No: 116. İzmir, 396 ss.
- SOLLER, M. and BECKMANN, J.S. 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 67: 25-33.
- SOZEN, E. and POYRAZ, İ. 2008. Rapid and high quality DNA isolation from *Origanum onites* for RAPD and ISSR analysis. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung C*, 63: 595-598.
- STAHL –BISKUP, E.J. 2002. Essential oil chemistry of the genus Thymus- a global view. in Stahl-Biskup E, Saez F, (eds) Thyme-the Genus Thymus, Taylor-Francis pp. 75-124, London.

- STAUB, J., BACHER, J. and POETTER, K. 1996. Sources of potential errors in the application of Random Amplified Polymorphic DNAs in cucumber. *HortScience*, 31: 262-266.
- SUNNUCKS, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 15: 199-203.
- SYTSMA, K.J. 1990. DNA and morphology-inference of plant phylogeny. *Trends In Ecology & Evolution*, 5: 104-110.
- SYTSMA, K.J. and HAHN, W.J. 1994. Molecular systematics: 1991-1993. *Progress In Botany*, 55: 307-333.
- SYTSMA, K.J. and PIRES, J.C. 2001. Plant systematics in the next 50 years-re-mapping the new frontier. *Taxon*, 50: 713-732.
- ŞENÇİÇEK, A.G.E. 2000. RAPD markırlarını kullanarak Türk susam (*Sesamum indicum* L.) populasyonlarında genetik uzaklıkların analizi. Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 102 ss.
- TALBERT, L.E., BLAKE, N.K., CHEE, P.W., BLAKE, T.K. and MAGYAR, G.M., 1994. Evaluation of sequencetagged-site PCR products as molecular markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 789–794.
- TABERLET, P., GRIFFIN, S., GOOSSENS, B., QUESTIAU, S., MANCEAU V., ESCARAVAGE, N., WAITS, L.P. and BOUVET, J. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research*, 24: 3189–3194.
- TANKSLEY, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1: 3-8.

- TANKSLEY, S.D. and ORTON, T.J. 1983. Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Part B, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 526 pp.
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H. and BONIERBALE, M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. *Biotechnology*, 47: 257-264.
- THOMAS, M.R. and SCOTT, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics*, 86: 985-990.
- THOMPSON, J.D. and D. MANICACCI, T.M. 1998. Thirty-five years of thyme: a tale of two polymorphisms. *BioScience*, 48: 805-815.
- TRINDADE, H., COSTA, M.M., SOFIA, B.L.A., PEDRO, L.G., FIGUEIREDO, A.C. and BARROSO, J. 2008. Genetic diversity and chemical polymorphism of *Thymus caespititius* from Pico, Saõ Jorge and Terceira islands (Azores). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 790-797.
- TROJANOWSKA, M.R. and BOLIBOK, H. 2004. Characteristics and a comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 9: 221-238.
- ÜNAL, O., TOPÇUOĞLU, Ş.F. and GÖKÇEOĞLU, M. 2005. Antalya ili için endemik olan *Origanum* türlerinin biyolojik özellikleri üzerine bir araştırma. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18:1-14.
- VERNET, P.H., GOUYON, P.H. and VALDEYRON, G. 1986. Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L.: A case of polymorphism in a biosynthetic chain. *Genetica*, 69: 227-231.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., LEE, T., HORNES, M., FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M., and ZABEAU, M. 1995.

- AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4414.
- WAGSTAFF, S.J., HICKERSON, L., SPANGLER, R., REEVES, P.A. and OLMSTEAD, R.G. 1998. Phylogeny in Labiatae s.l., inferred from cpDNA sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 209: 265-274.
- WATSON, J.D., GILMAN, M., WITKOSKI, J. and ZOLLER, M. 1992. Recombinant DNA. 2nd Ed., Scientific American Books, New York, 626 pp.
- WEBER, J.L. and MAY, P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the Polymerase Chain Reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44: 388-396.
- WU, K.S. and TANKSLEY, S.D. 1993. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Molecular Genomics and Genetics*, 241: 225-235.
- WINK, M. and KAUFMAN, M. 1996. Phylogenetic relationships between some members of the subfamily Lamioideae (Family Labiatae) inferred from nucleotide sequences of the rbcL. *Gene Botanical Acta*, 109: 139-148.
- WINK, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 3-19.
- YILDIRIM, A. and KANDEMİR, N., 2001. Genetik Markırlar ve Analiz Metotları. S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoğlu (Editörler) Bitki Biyoteknolojisi, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları (Bölüm 23). Selçuk Üniversitesi Vakıf Yayınları, ss. 334-363.

- YILDIZ, B., 2004. Türkiye’de yetişen *Thymus* L. (Lamiaceae) türlerinin revizyonu ve türler üzerinde palinolojik ve kimyasal araştırmalar. Proje No: TBAG-1715 (198T003). (Yayınlanmamış sonuç raporu), Balıkesir.
- YILMAZER, S., ÖZTÜRK, M., ARI, Ş. ve SARIKAYA A.T. 2004. Nükleik Asit Melezlemesine Dayalı Yöntemler Temizkan, G., Arda, N (Editörler), Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGE) Yayın No: 2. Nobel Tıp Kitabevleri, ss. 147-155, İstanbul.
- ZAOUALI, Y. and BOSSAID, M. 2006. Isozyme markers and volatiles in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae): A comparative analysis of population structure. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 11-21
- ZHAO, X. and KOCHERT, G. 1993. Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)_n microsatellite from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Molecular Biology*, 21: 607-614.

7. EKLER

Lamiaceae (Ballıbabagiller) Familyasının Genel Özellikleri

Kozmopolit olan familya yaklaşık 220 cins ve 4000'den fazla tür içerir (Kaufman ve Wink 1994). Ülkemizde bu familyaya ait 45 cins ve 546 tür ve 731 takson bulunmaktadır (Başer 1993) Lamiaceae familyasının yaklaşık 220 cinsten gruplanmış 4000'den fazla türü kapsadığını, Lamiaceae familyasının sınıflandırmasının hala tartışma konusu olduğunu bildirmişlerdir. Lamiaceae familyasının Nepetoidea alt familyasına ait 41 taksanın aralarındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek amacıyla rbcL gen sekanslarını analiz etmişler ve bu alt familyada bulunan *Majarona hortensis* türünün *Origanum*'dan önemli ölçüde farklılık gösterdiğini dolayısıyla *Majarona*'nın kendisinin bir cins olarak değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Familya üyeleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayiinde önemlidir. Eterik yağ elde edilir. Baharat olarak kullanılır ve süs bitkisi olarak yetiştirilir (Seçmen vd 1995).

Genellikle salgılı ve aromatik otsular veya çalılar; gövde 4 köşeli veya değil. Yapraklar stipülsüz (kulakçiksız), basit, bazen tüysü, karşılıklı dizilişli. Çiçek durumu braktelerin veya üst gövde yapraklarının koltuklarından çıkan kimözler halinde ve genellikle halkasal çiçek durumlarında (başcık, rasem veya kimöz). Hermafrodit veya ginodioik (erkek kısır ve dişi fertil). Brakteler yapraklardan belirgin biçimde farklı veya yapraklara benzer; brakteoller var veya yok. Kaliks genellikle zigomorf simetridir, 5 loblu (üstte 3-, altta 2 dişli), nadiren loblar veya dişler 1 veya 1-4 adet, veya kaliks aktinomorf simetridir; 5-20 damarlı. Korolla bileşik petalli, zigomorf simetridir ve iki dudaklı, üst dudak hafifçe 2 loblu, oraksı biçimli, düz veya ±konkav duruşlu, alt dudak (labellum) 3 loblu; nadiren üst dudak indirgenmiş ve alt dudak 5 loblu veya üst dudak 1, alt dudak 4 loblu veya korolla aktinomorfik simetridir. Stamenler korolla tüpüne kaynaşık, 4 adet (ikisi uzun ikisi kısa) veya 2 adet ve genellikle staminodlu (kısır erkek organ); dış kısımdaki ikisi, iç kısımdakilerden genellikle daha kısa; anter 1 veya 2 tekali, paralel veya açılı duruşlu, nadiren (*Salvia*'da) konnektifler uzamış ve ayrık. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve 4 tohum taslaklı, 4 loblu. Stilus ginobazik veya

nadiren değil, üst kısımda hafifçe iki parçalı. Meyve tipik olarak 4 nutletten (findıksı meyve) oluşmuştur (Davis 1982).

***Origanum* L. cinsinin genel özellikleri**

Otsu veya tabanda odunsu yapılı, tüylü veya tüysüz (genellikle puslu görünümlü) çok yıllıklar. Gövde genellikle dallanmış, yükselici veya dik duruşlu. Yapraklar basit, genellikle kısa saplı veya kısmen sapsız, eliptik, yumurtamsı, kalpsi veya yarı-dairesel biçimli, tam veya dişli kenarlı, kör ya da uzun-sivri uçlu. Halkasal çiçek durumları 2 veya daha fazla çiçekli, genellikle panikula veya yalancı korimbus biçimindeki çiçek durumlarında kümelenmiş. Brakteler yapraklardan biçim ve büyüklük bakımından farklı, genellikle kiremitsi dizilişli, kaliksin 1/2-1/3 uzunluğunda veya kalikse eşit boyda, bir tarafı zarsı yapılı ve kısmen mor veya sarı-yeşil renkli, veya yapı ve renk bakımından yapraklara benzer. Çiçekler hermafrodit veya ginodioik. Kaliks (çanak yaprak) kısmen aktinomorfik simetridir ve 5 dişli veya zigomorfik simetridir ve 1-2 dudaklı, 13- veya 10-damarlı; kaliks boğazında genellikle tüylü bir halkasal yapı bulunur. Korolla (taç yaprak) mor, pembe veya beyaz renkli, kısmen 2 dudaklı, korolla tüpü bazen keseli veya düzleşmiş; üst dudak çentikli uçlu veya uçta hafifçe 2 loblu; alt dudak 3 loblu. Stamen 4 adet, dış kısımdaki ikisi uzun, korolladan dışarı çıkar veya kısmen korolla içinde kalır; filamentler birbirine eşit olamayan uzunluklarda, tekalar birbirine açılı duruşlu. Nutletler küçük, yumurtamsı biçimli, kahverengi renktedir.

***Origanum saccatum* P. H. DAVIS**

Çok yıllık, yarıçalı, 80 cm'e kadar, tabanda hemen hemen kaba tüylü aksi halde tüysüz, her ana dalda 12 çift kadar yan dal, yan dallar 7 cm'e kadar, yan dallarda bazen dallanma görülebilir, yaprak yarı sapsız, yüreksiden yumurta biçimliye değişebilir, yeşilimsi pulsu, keskin sivri veya küt uçlu, brakteler yumurta biçimli, uzun veya keskin sivri uçlu, kaliks bir dudaklı (nadiren iki olabilir), üst dudak yarı bölünmemiş, alt dudak varsa iki çok küçük lobdan oluşmakta, korolla pembe, yaklaşık 12 mm.

Çiçeklenme dönemi: Temmuz - Ağustos

Habitat: Kalkerli kayalar ve yamaçlar, bazen Pinus koruluğu

**Yayılış gösterdiği
yükseklik:** 0 – 1000 m

Endemik: Endemik

Türkiye dağılışı: G. Anadolu

Genel dağılışı: Türkiye



Şekil Ek-1. *Origanum saccatum* türünün genel görünümü



Şekil Ek-2. *Origanum saccatum* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Gündoğmuş, 14/08/2007 | 1008 m |
| 2. lokasyon; Alanya, 22/08/2007 | 1173 m |
| 3. lokasyon; Gazipaşa, 29/08/2007 | 281 m |



Şekil Ek-3. *Origanum saccatum* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum solymicum* P. H. DAVIS**

Çok yıllık, yarıçalı, 80 cm'e kadar, tabanda düzensiz kaba tüylü aksi halde tüysüz, her ana dalda 8 çift yan dal bulunmakta, yan dallar 7 cm'e kadar, yan dallarda bazen dallanma görülebilir, yaprak yarı sapsız, yüreksiden yumurta biçimliye değişebilir, keskin sivri veya küt uçlu, brakteler yumurta biçimli, uzun veya keskin sivri uçlu, kaliks bir dudaklı, üst dudak belirgin olarak üçgen dişli, korolla pembe, 11 – 15 mm, hafifçe keseli.

Çiçeklenme dönemi: Ağustos

Habitat: Kalkerli kaya ve yamaçlar, bazen Pinus koruluğu

**Yayılış gösterdiği
yükseklik:** 60 m

Endemik: Endemik

Türkiye dağılışı: GB. Anadolu

Dünya dağılışı: Türkiye



Şekil Ek-4. *Origanum solymicum* türünün genel görünümü



Şekil Ek-5. *Origanum solymicum* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|--------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Kemer, 21/08/2007 | 51 m |
| 2. lokasyon; Kemer, 21/08/2007 | 471 m |
| 3. lokasyon; Kemer, 28/08/2007 | 1149 m |



Şekil Ek-6. *Origanum solymicum* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum husnucanbaseri* H. DUMAN**

Çok yıllık, yarıçalı, 10 - 30 cm, gövde eğik tırmanışlı veya dik, dallanmasız, tüysüz, mor veya koyu kahverengi, ana dalda 13 çift kadar yaprak bulunabilmekte, sapsız, yürksi, yumurtamsıdan yuvarlağa, keskin sivri uçludan uzun sivri uçluya, yeşilimsi pulsudun morumsuya, damarlar belirgin, sertte yakın, tüysüz, salgı bezi sapsız, brakteler yumurta biçimli veya yumurtamsı, keskin sivri uçlu, mor, her çiçek durumu halkasında iki çiçek bulunmakta, kaliks iki dudaklı, 6 – 7 mm, boğaz tüylü, aksi halde tüysüz, üst dudak üç eşit parçalı, parçalar üçgen, keskin sivri uçlu, korolla pembe, 13 – 15 mm, keseli değil, tüp aşağıya doğru hafifçe kavisli.

Çiçeklenme dönemi:	Temmuz – Ağustos
Habitat:	Kalkerli kayalık alanlar, Pinus nigra ormanları
Yayılış gösterdiği yükseklik:	1200 - 1350 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılışı:	D. Anadolu
Dünya dağılışı:	Türkiye



Şekil Ek-7. *Origanum husnucanbaseri* türünün genel görünümü



Şekil Ek-8. *Origanum husnucanbaseri* türünün örneklendiği lokasyon

1. lokasyon; Alanya, 25/07/2007

1359 m



Şekil Ek-9. *Origanum husnucanbaseri* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum bilgeri* P. H. DAVIS**

Çok yıllık, yarıçalı, 30 cm'ye kadar, kaba tüylüden keçemsi tüylüye, her ana dalda 10 çift kadar yan dal bulunmakta, yan dallar 6 cm'ye kadar, yaprak sapı saplıdan yarı saplıya kadar, yuvarlakça veya yumurta biçimli, kör veya küt uçlu, brakteler yumurta biçimli veya yumurtamsı, kör, küt veya keskin sivri uçlu, kaliks yaklaşık 2,5 mm, üst dudak yaklaşık yarısına kadar dişli, alt dudak neredeyse üst dudak kadar uzun, geniş üçgen dişler içermekte, korolla beyaz, 3 – 6 mm.

Çiçeklenme dönemi: Temmuz

Habitat: Seyrek sedir ormanları

Yayılış gösterdiği yükseklik: 1525 m

Endemik: Endemik

Türkiye dağılışı: G. Anadolu

Dünya dağılışı: Türkiye



Şekil Ek-10. *Origanum bilgeri* türünün genel görünümü



Şekil Ek-11. *Origanum bilgeri* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Gündoğmuş, 26/07/2007 | 1545 m |
| 2. lokasyon; Akseki, 13/09/2007 | 1115 m |



Şekil Ek-12. *Origanum bilgeri* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum minutiflorum* O. SCHWARZ ET P. H. DAVIS**

Çok yıllık, yarıçalı, 35 cm kadar, ince tüyü, her ana dalda 10 çift yan dal bulunmakta, yan dallar 4 cm kadar, yaprak tam veya yarım saplı, yumurtamsı veya yumurta biçimli, brakteler yumurtamsı veya yumurta biçimli, hemen hemen kör veya küt uçlu, kaliks yaklaşık 2 mm, üst dudak parçalı veya genişçe üçgen dişli, alt dudak neredeyse üst dudak kadar uzun, geniş üçgen dişlerden oluşmakta, korolla beyaz, 2,5 – 4 mm.

Çiçeklenme dönemi: Temmuz - Ağustos

Habitat: Kireçtaşı kaya yamaçları

Yayılış gösterdiği yükseklik: 1500 – 1800 m

Endemik: Endemik

Türkiye dağılışı: GB. Anadolu

Dünya dağılışı: Türkiye



Şekil Ek-13. *Origanum minutiflorum* türünün genel görünümü



Şekil Ek-14. *Origanum minutiflorum* türünün örneklediği lokasyonlar

- | | |
|-------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Bozburun, 26/07/2007 | 1332 m |
| 2. lokasyon; Sakarpınar, 01/08/2007 | 1788 m |
| 3. lokasyon; Kemer, 28/08/2008 | 1339 m |



Şekil Ek-15. *Origanum minutiflorum* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum majorana* L.**

Çok yıllık, yarıçalı, 80 cm kadar, keçemsi tüylü, her ana dalda 10 çift yan dal bulunmakta, yan dallar 14 cm kadar, yaprak tam veya yarım saplı, yuvarlakça, yumurtamsı veya yumurta biçimli, her zaman kör veya küt uçlu, damarlar alt yüzeyde belirgin değil, brakteler yumurtamsı, ters yumurta biçimli veya açılı yumurtamsı, daima kör veya küt uçlu ve düz kenarlı, kaliks 2 – 3,5 mm, korolla beyaz, 3 – 7 mm.

Çiçeklenme dönemi: Mayıs – Haziran – Temmuz – Ağustos - Eylül

Habitat: Kuru yamaçlar ve kayalık yerler, bazen kısmen gölgelik yerler

Yayılış gösterdiği yükseklik: 400 – 1500 m

Endemik: -

Türkiye dağılışı: G. Anadolu

Dünya dağılışı: Kıbrıs

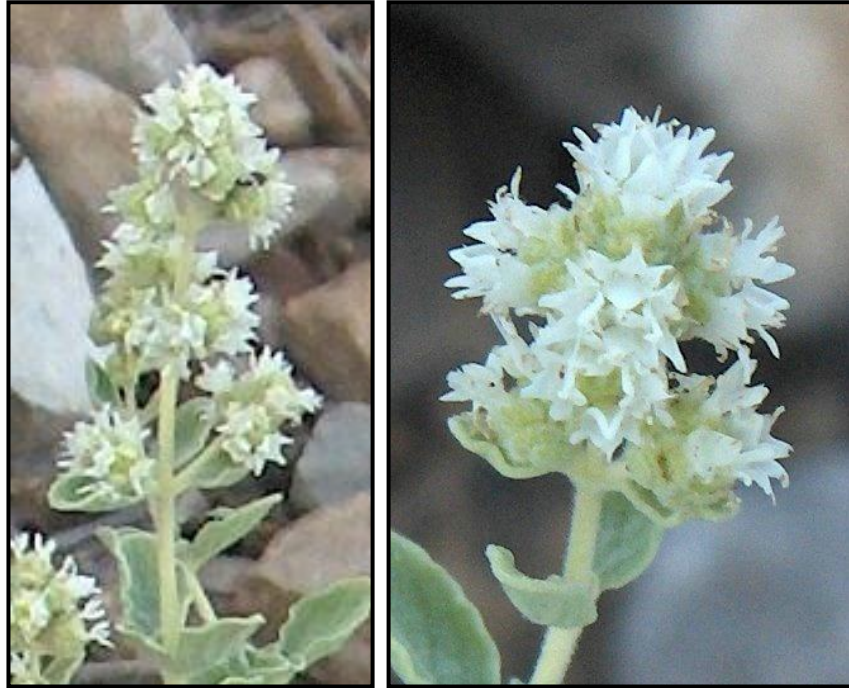


Şekil Ek-16. *Origanum majorana* türünün genel görünümü



Şekil Ek-17. *Origanum majorana* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|-----------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Akseki, 10/07/2007 | 582 m |
| 2. lokasyon; Gazipaşa, 11/07/2007 | 1372 m |
| 3. lokasyon; Alanya, 07/08/2007 | 1041 m |



Şekil Ek-18. *Origanum majorana* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum onites* L.**

Çok yıllık, yarıçalı, 65 cm kadar, keçemsi tüylü, her ana dalda 10 çift yan dal bulunmakta, yan dallar 13 cm kadar, yaprak tam veya yarım saplı, yüreksi, yumurtamsı veya yumurta biçimli, keskin veya uzun sivri uçlu, çok az ince testere dişli veya düz kenarlı, damarlar alt yüzeyde az çok belirgin, brakteler ters yumurta biçimli veya yumurtamsı, keskin veya uzun sivri uçlu ve düz kenarlı veya ince dişli, kaliks 2 – 3 mm, korolla beyaz, 3 – 7 mm.

Çiçeklenme dönemi: Nisan – Mayıs – Haziran – Temmuz – Ağustos

Habitat: Taşlık tepe ve kaya yamaçları, genellikle kireçtaşı, bazen kısmen gölgelik yerler

Yayılış gösterdiği yükseklik: 0 – 1400 m

Endemik: -

Türkiye dağılışı: B. ve G. Anadolu

Dünya dağılışı: Sicilya, Yunanistan, Ege



Şekil Ek-19. *Origanum onites* türünün genel görünümü



Şekil Ek-20. *Origanum onites* türünün örneklediği lokasyonlar

- | | |
|----------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Elmalı, 05/06/2007 | 1037 m |
| 2. lokasyon; Fasilis, 07/06/2007 | -7 m |
| 3. lokasyon; Kumluca, 03/07/2007 | 521 m |



Şekil Ek-21. *Origanum onites* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (LINK) IETSWAART**

Çok yıllık, yarıçalı, 100 cm kadar, gövde yoğun kaba tüylü, her ana dalda 12 çift yan dal bulunmakta, yan dallar 25 cm kadar, yaprak tam veya yarım saplı, yumurtamsı, yumurta biçimli veya yuvarlakça, keskin sivri veya kör veya küt uçlu, yoğun bir şekilde benekli salgı bezli, mat yeşil değil, brakteler ters yumurta biçimli veya yumurtamsı, yeşil, neredeyse keskin sivri veya uzun sivri uçlu, kaliks bariz bir şekilde benekli salgı bezli, 2 – 4 mm, yapraklar, brakteler ve kaliks hemen hemen kaba tüylü, korolla beyaz, 3 – 10 mm.

Çiçeklenme dönemi: Mayıs – Haziran – Temmuz – Ağustos – Eylül – Ekim

Habitat: Kuru tepe ve kaya yamaçları, kalkerli ve kalkersiz toprak, konifer veya karışık ormanlar, maki

Yayılış gösterdiği yükseklik: 0 – 2500 m

Endemik: –

Türkiye dağılışı: D. Akdeniz

Dünya dağılışı: Yunanistan, Ege



Şekil Ek-22. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türünün genel görünümü



Şekil Ek-23. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Gazipaşa, 11/07/2007 | 1468 m |
| 2. lokasyon; Altınyaka, 24/07/2007 | 1053 m |
| 3. lokasyon; Alanya, 25/07/2007 | 1317 m |



Şekil Ek-24. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* türünün çiçeğine ait genel görünüm

Thymus L. cinsinin genel özellikleri

Öbek oluşturan veya en azından tabanda odunsu yapılı çok yıllıklar veya küçük çalılardır. Yapraklar kenarları düz veya geri kıvrık, saplı veya sapsız, yaprak ayası genellikle tabana doğru sili (sınırsal tüylü-kirpikli). Brakte, kaliks ve özellikle yapraklar salgılı; salgı keseleri sapsız, renksiz veya açık kırmızı renkli. Halkasal çiçek durumları 2 veya daha fazla çiçekli. Brakteoller (pulsu yaprakçık) genellikle küçük. Kaliks belirgin biçimde iki dudaklı; tüp kısmı silindirikten çansıya kadar değişen biçimlerde, 10-13 damarlı, düz duruşlu, boğaz kısmı sakallı; üst dudak kısmen genişlemiş veya geriye kıvrık, 3 dişli (dişler üst dudağın 1/10-1/2'si uzunluğunda), silli, üste doğru kıvrık. Korolla mor, pembe, krem veya beyaz renklerde; tüp kısmı düz duruşlu, kaliks boğazında tüylü bir halkasal yapılı bulunmaz; üst dudak çentikli uçlu, kısmen düz duruşlu; alt dudak 3 loblu. Stamen 4 adet, hermafrodit çiçeklerde korolladan dışarı çıkar, tekalar birbirine paralel veya açılı duruşlu. Nutletler tüysüz yapıdadır (Davis 1982).

***Thymus cilicicus* BOISS. ET BAL.**

Çok yıllık, yoğun demetli küçük çalı formunda, gövde 3-15 cm, dik, her tarafı kısa aşağıya kıvrık tüylerle kaplı, uzun sürgünlerin yaprakları 7-10 x 0.8-1.5 mm, sapsız, mızraksı-biz biçimli, yassı kenarlı, ince sık tüylü, alt 1/3 silli, yağ noktaları çoğunlukla düzensiz, sarımsı, koltuk altı yaprak demetleri 3-4 x 0.3-0.5 mm, belirgin geriye kıvrık kenarlı, ince sık tüylü, çiçeklenme başcıklı, yaklaşık 1.5 x 1 cm, brakteler 7.5-10 x 3-4 mm, yumurta biçimli, dar uzun uçlu, ince sık tüylü, alt ½ sili, altta 4-5 çift güçlü lateral damarlı, çok sayıda yağ noktalı, sarımsı, brakteoller 2 mm kadar, sili, kaliks 3.5-5 mm, dudaklar hemen hemen eşit uzunlukta, borucuktan daha uzun, üst dişler 0.5-0.8 mm, üçgen, düzensiz sili, korolla lila- mor, 5-6.5 mm.

Çiçeklenme dönemi: Nisan – Mayıs – Haziran – Temmuz - Ağustos

Habitat: Açık kayalık ve çakıllı yerler

Yayılış gösterdiği yükseklik: 70 – 2000 m

Endemik: -

Türkiye dağılımı: GB. ve G. Anadolu

Genel dağılımı: Ege Adaları



Şekil Ek-25. *Thymus cilicicus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-26. *Thymus cilicicus* türünün örneklediği lokasyonlar

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Alanya, 25/07/2007 | 1378 m |
| 2. lokasyon; Gazipaşa, 25/07/2007 | 1386 m |
| 3. lokasyon; Gündoğmuş, 26/07/2007 | 1463 m |



Şekil Ek-27. *Thymus cilicicus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus revolutus* CELAK.**

Çok yıllık, kısa odunsu çalı, ince, sürünücü, kısmen toprakaltında ve köklenme birincil dallardan, çiçekli dallar 2-9 cm, dik, tamamı belirgin olarak uzun yumuşak sık tüyle kaplı, boğumaları yapraklardan kısa, koltukaltı yaprak salkımı mevcut, yapraklar 8-13 x 0.7-0.9 mm, mızraksı-oraksı, kenarlar tamamen dışa kıvrık, kısa ve uzun tüylü, tepeye doğru sili, yağ noktaları çoğunlukla çok sayıda, turuncudan kırmızı lal rengine değişmekte, çiçeklenme yoğun kozalak biçimli başcık 1.5 x 1.5 cm, brakteler 7-12 x 3.5-7.5 mm, geniş yumutamsı ince sivri uçlu, kenarlar tepeye doğru dışa kıvrık, 3-5 çift güçlü yanal damarlı, brakteoller çok küçük, kaliks 4-5 mm, tüylüden uzun yumuşak sık tüylüye, dudaklar eşit, daima borucukdan uzun, üst dudak 0.8 mm kadar, sili, korolla mor, 6-8 mm.

Çiçeklenme dönemi:	Mayıs – Haziran - Temmuz
Habitat:	Açık kayalık ve çakıllık yerler
Yayılış gösterdiği yükseklik:	0 – 800 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılımı:	G. Anadolu
Genel dağılımı:	Türkiye



Şekil Ek-28. *Thymus revolutus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-29. *Thymus revolutus* türünün örneklendiği lokasyonlar

1. lokasyon; Saklıkent, 06/06/2007 733 m

2. lokasyon; Kemer, 24/06/2007 1439 m



Şekil Ek-30. *Thymus revolutus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus cherlerioides* VIS.**

Çok yıllık, yastık formunda kısa çalı, ana dallar sürünücü, çiçekli dallar 1-3 cm, ince sık tüylüden kaba tüylüye, nadiren tüysüz, yapraklar 4-7 x 0.5-0.7 mm, şeritsi, kadifemsi-ince sık tüylü nadiren tüysüz, yağ noktaları yok veya düzensiz, sarı, kenarlar belirgin biçimde dışa kıvrık orta üst kısım sili, brakteler 0.8-2 mm genişlikte hemen hemen yapraklarla aynı, yanal damarlar yoğun olarak belirgin, brakteoller 5-6.5 mm, dudaklar hemen hemen eşit, üst dudak 0.7-1 mm, çoğunlukla sili, korolla mor, hafifçe kaliksi aşmakta.

var. *isauricus* JALAS

Kenara ait siler dışında yaprak tüysüz, üst kaliks dudağı silli

Çiçeklenme dönemi:	Temmuz
Habitat:	Dağ
Yayılış gösterdiği yükseklik:	300 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılımı:	300
Genel dağılımı:	G. Anadolu
Çiçeklenme dönemi:	Türkiye



Şekil Ek-31. *Thymus cherlerioides* var. *isauricus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-32. *Thymus cherlerioides* var. *isauricus* türünün örneklendiği lokasyon

1. lokasyon; Gündoğmuş, 14/08/2007 1523 m



Şekil Ek-33. *Thymus cherlerioides* var. *isauricus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus leucotrichus* HAL.**

Çok yıllık, gevşek yastık veya halı formunda kısa çalı, ana dallar yatık gövdeli, koltuk altı yaprak demetli veya dik çiçekli dallar 1.5-6 cm, her yeri değişik tipte tüylerle kaplı, yapraklar 4-9.5 x 0.6-1.3 mm, şeritsi-mızrak, ekstra uzun tüylerle çoğunlukla kadifemsi-ince sık tüylü, yağ noktaları yok veya çok nadir, belirsiz, kenarlar hafif geriye bükük veya kalınlaşmış yalancı geriye bükük, en azından bazal yarısı sili, çiçeklenme başcıklı, brakteler 1.8-3.5 mm genişliğinde, oval-yumurtamsı, çoğunlukla kenarda kalınlaşmış ve uçlara doğru kenarlar geriye dönük, çoğunlukla tabana doğru renkli, altta 1-2 (-3) çift yanal damar, brakteoller 1-2.5 mm, kaliks 3.5-5.2 (-6.5) mm, yağ noktaları yok veya az, sarımsı, üst dişler 0.8-1.6 mm, korolla lila-mor, 6-8 mm.

var. *austroanatolicus* JALAS

Yapraklarda kadifemsi tüy yok (genç dönemde olabilir), kaliks 4.5-6.5 mm

Çiçeklenme dönemi:	Haziran - Temmuz
Habitat:	Dağ stepleri, kayalık yamaçlar
Yayılış gösterdiği yükseklik:	1900 – 2300 m
Endemik:	-
Türkiye dağılımı:	G. Anadolu
Genel dağılımı:	Lübnan



Şekil Ek-34. *Thymus leucotrichus* var. *austroanatolicus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-35. *Thymus leucotrichus* var. *austroanatolicus* türünün örneklendiği lokasyon

1. lokasyon; Gazipaşa, 11/07/2007 2131 m



Şekil Ek-36. *Thymus leucotrichus* var. *austroanatolicus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus zygioides* GRISEB.**

Çok yıllık, çalı, sürdüğü odunsu uzun dallar üzerinde sıralı çiçekli dallar 2-8 cm, merkezden uzakta koltukaltı yaprak salkımları oluşmakta, yapraklar 6.5-15 mm x 0.8-1.7 mm, kaşıkı gibi, küt uçlu, hemen hemen etli, ortanın üstünde sili, çiçeklenme başcıklı, brakteler 4-10 x 1-2.5 mm, yumurtamsı-dilsiden yumurtamsıya şekilli, tabanı mat ve dikkat çeken yaprak damar düzenine sahip, brakteoller 1 mm kadar, mızraksıdan yumurtamsıya değişmekte, kaliks 3.5-4.5 (-5.6) mm, hafif mora boyanmış, tüpcük dudaklardan daha kısa, üst dişler 1 mm kadar, korolla pambe, 7 (-8.5) mm.

var. *lycaonicus* (CELAK.) RONNIGER

Gövde çoğunlukla belirgin uzun tüylü özellikle merkezden uzak kısımlarda, yapraklar daha dar, belirgin damarlı, hemen hemen tüylü, tüyler ve kenar siller 2 mm'ye kadar, yağ noktaları çok sayıda, turuncudan kırmızıya renkte, üst kaliks dişi (0.4-) 0.6-1 mm'ye kadar, çoğunlukla sili.

Çiçeklenme dönemi:	Nisan – Mayıs - Haziran
Habitat:	Pinus brutia koruluğundaki kumlu veya kayalık yerler, seyrek maki
Yayılış gösterdiği yükseklik:	0 – 160 m
Endemik:	-
Türkiye dağılımı:	Trakya, B., O. ve GB. Anadolu
Genel dağılımı:	Ege Adaları



Şekil Ek-37. *Thymus zygioides* var. *lycaonicus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-38. *Thymus zygioides* var. *lycaonicus* türünün örneklendiği lokasyonlar

- | | |
|------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Akseki, 30/05/2007 | 1279 m |
| 2. lokasyon; Elmalı, 28/07/2007 | 1493 m |
| 3. lokasyon; Saklıkent, 28/07/2007 | 1613 m |



Şekil Ek-39. *Thymus zygioides* var. *lycaonicus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus sipyleus* BOISS subsp. *sipyleus* BOISS.**

Çok yıllık, kısa odunsu ve serbest dallanan yoğun yastık formunda yarı çalı, çiçekli dallar 1-7 (-10) cm, dik, tüm yüzey çoğunlukla kısa geriye kıvrılmış tüylü, boğumaları genellikle yapraklardan kısa, koltukaltı kümesinde küçük, yumurta biçimli, sıkışık bindirmeli, karşılıklı çapraz yapraklar bulunmakta, gövde yaprakları 3-6 (-7.5) mm, yumurta biçimliden mızraksıya, kör veya küt uçlu, hemen hemen etli, yağ noktaları genellikle yok ya da altlarda çok az sayıda, yan damarlar kenar kalınlaşma formuna katılmış, en iyi gelişme yaprak benzeri braktelerde, brakteoller genellikle 1-1.5 mm, genellikle pedisellerden daha uzun, kaliks 3.2-3.8 -4.5) mm, genellikle yeşil, hemen hemen çansı, dudaklar hemen hemen eşit uzunlukta ve borucuğa eşit, üst dişler 0.5-0.9 (-1.2) mm, korolla beyaz, bazen pembe, 5-6 mm.

var. *sipyleus* RONNIGER

Orta gövde yaprakları yumurta biçimli-yumurtamsıdan yumurta biçimli-mızraksıya, 3 katı kadar geniş, sık sık geriye eğilmiş ve hemen hemen omurgalı, yan damarlar üç çift, belirgin, çiçeklenme sık başcık veya vejetatif sürgünden sadece hafifçe farklılaşmış, sıklıkla 2 çiçekli çiçek durum halkalı

Çiçeklenme dönemi:	Mayıs – Haziran – Temmuz - Ağustos
Habitat:	Dağ bozkırları, kayalık yamaçlar
Yayılış gösterdiği yükseklik:	400 – 2700 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılımı:	GB. Anadolu
Genel dağılımı:	Türkiye



Şekil Ek-40. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* türünün çiçeğine ait genel görünüm



Şekil Ek-41. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* türünün örneklediği lokasyonlar

- | | |
|-------------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Korkuteli, 05/06/2007 | 1346 m |
| 2. lokasyon; Elmalı, 28/07/2007 | 1599 m |
| 3. lokasyon; Beydağları, 28/07/2007 | 2000 m |



Şekil Ek-42. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* türünün genel görünümü

***Thymus sipyleus* BOISS subsp. *sipyleus* BOISS.**

Çok yıllık, kısa odunsu ve serbest dallanan yoğun yastık formunda yarı çalı, çiçekli dallar 1-7 (-10) cm, dik, tüm yüzey çoğunlukla kısa geriye kıvrılmış tüylü, boğumalarını genellikle yapraklardan kısa, koltukaltı kümesinde küçük, yumurta biçimli, sıkışık bindirmeli, karşılıklı çapraz yapraklar bulunmakta, gövde yaprakları 3-6 (-7.5) mm, yumurta biçimliden mızraksıya, kör veya küt uçlu, hemen hemen etli, yağ noktaları genellikle yok ya da altlarda çok az sayıda, yan damarlar kenar kalınlaşma formuna katılmış, en iyi gelişme yaprak benzeri brakteelerde, brakteoller genellikle 1-1.5 mm, genellikle pedisellerden daha uzun, kaliks 3.2-3.8 -4.5) mm, genellikle yeşil, hemen hemen çansız, dudaklar hemen hemen eşit uzunlukta ve borucuğa eşit, üst dişler 0.5-0.9 (-1.2) mm, korolla beyaz, bazen pembe, 5-6 mm.

var. *davisianus* RONNIGER

Yapraklar her iki tarafta da yumuşak seyrek tüylü

Çiçeklenme dönemi:	Mayıs – Haziran – Temmuz - Ağustos
Habitat:	Dağ bozkırları, kayalık yamaçlar
Yayılış gösterdiği yükseklik:	400 – 2700 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılımı:	GB. Anadolu
Genel dağılımı:	Türkiye



Şekil Ek-43. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus* türünün genel görünümü



Şekil Ek-44. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus* türünün örneklediği lokasyon

1. lokasyon; Saklıkent, 02/08/2007 2023 m



Şekil Ek-45. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *davisianus* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus sipyleus* BOISS subsp. *sipyleus* BOISS.**

Çok yıllık, kısa odunsu ve serbest dallanan yoğun yastık formunda yarı çalı, çiçekli dallar 1-7 (-10) cm, dik, tüm yüzey çoğunlukla kısa geriye kıvrılmış tüylü, boğumaları genellikle yapraklardan kısa, koltukaltı kümesinde küçük, yumurta biçimli, sıkışık bindirmeli, karşılıklı çapraz yapraklar bulunmakta, gövde yaprakları 3-6 (-7.5) mm, yumurta biçimliden mızraksıya, kör veya küt uçlu, hemen hemen etli, yağ noktaları genellikle yok ya da altlarda çok az sayıda, yan damarlar kenar kalınlaşma formuna katılmış, en iyi gelişme yaprak benzeri braktelerde, brakteoller genellikle 1-1.5 mm, genellikle pedisellerden daha uzun, kaliks 3.2-3.8 -4.5) mm, genellikle yeşil, hemen hemen çansı, dudaklar hemen hemen eşit uzunlukta ve borucuğa eşit, üst dişler 0.5-0.9 (-1.2) mm, korolla beyaz, bazen pembe, 5-6 mm.

var. *rosulans* RONNIGER

Orta gövde yaprakları mızraksıdan hemen hemen mızraksıya, eninin 3 katından uzun, sıklıkla düz, yan damarlar çoğunlukla iki çift, belirgin değil, çiçek durumu baş şeklinde veya bazen uzamış, genellikle çiçek durumu halkaları çok çiçekli

Çiçeklenme dönemi:	Mayıs – Haziran – Temmuz - Ağustos
Habitat:	Dağ bozkırları, kayalık yamaçlar
Yayılış gösterdiği yükseklik:	400 – 2700 m
Endemik:	Endemik
Türkiye dağılımı:	GB. Anadolu
Genel dağılımı:	Türkiye



Şekil Ek-46. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* türünün genel görünümü



Şekil Ek-47. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* türünün örneklediği lokasyon

1. lokasyon; Gazipaşa, 25/07/2007 2005 m



Şekil Ek-48. *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans* türünün çiçeğine ait genel görünüm

***Thymus longicaulis* C. PRESL**

Paspas formunda, uzun hemen hemen odunsu sürünücü dallı, çiçeksiz veya terminal çiçeklenme durumunda, çiçekli dallar genellikle 10 (-15) cm, gövde yapraklarının hepsi (taban yaprak kümeleri hariç) yaklaşık aynı boyda, 5.5-13.5 x 1.2-3.4 (-4.7) mm, genelde genişliğinin 3-5 katı uzunlukta, şeritsi-mızraksıdan ters mızraksıya veya yumurtamsı mızraksı, genelde zayıf geriye bükük kenarlı, yağ noktaları çok sayıda, çoğunlukla kırmızı, yan damarlar gerilemişden belirginde değişmekte, gözden kaybolmakta, brakteoller çoğunlukla 1-2 mm, pedisellerden daha kısa, kaliks 2.4-4 mm, borucuk dudaklardan daha kısa veya bazen eşit, üst dudak alt dişlere eşit veya hafifçe daha uzun

subsp. *chaubardii* (BOISS. ET HELDR. EX REICHB. FIL.) JALAS

Yapraklar genellikle 2-3.3 mm genişliğinde, hemen hemen mızraksı, genellikle keskin sivri uçlu, genelde yan damarlar sert ve belirgin, kaliks yeşilimsi, nadiren morumsu, üst dudak alt dişlerden eşit veya genelde daha uzun, üst dişler (0.5-) 0.8-1.2 mm, sıklıkla dikenli uçlu, korolla solgun

var. *chaubardii* JALAS

Çiçekli sap her tarafı tüylü

Çiçeklenme dönemi:	Mayıs – Haziran - Temmuz
Habitat:	Seyrek ibreli koruluk, kayalık yamaçlar
Yayılış gösterdiği yükseklik:	250 – 2200 m
Endemik:	-
Türkiye dağılımı:	B., GB. ve O. Anadolu
Genel dağılımı:	Ege Adaları



Şekil Ek-49. *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* türünün genel görünümü



Şekil Ek-50. *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* türünün örneklediği lokasyonlar



Şekil Ek-51. *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* türünün çiçeğine ve sürünücü dalına ait genel görünüm

- | | |
|-----------------------------------|--------|
| 1. lokasyon; Bozburun, 26/07/2007 | 1476 m |
| 2. lokasyon; Elmalı, 12/07/2007 | 1720 m |

ÖZGEÇMİŞ

Safinaz Elmasulu, 1972 yılında Antalya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya’da tamamlayarak 1990 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı. 1995’de mezun oldu. Şubat 2000’de Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde yüksek lisans öğrenimine başladı. Eylül 2002’de yüksek lisans öğrenimini bitirerek doktora öğrenimine devam etti. 2000 yılından itibaren Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır. 2003 yılında Dr. Hasan Salih Elmasulu ile evlendi.

