ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *SALSOLA* (AMARANTHACEAE) TÜRLERİNİN *PSBB-PSBH* KLOROPLAST GENLER ARASI BÖLGESİ DNA DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Duru SANCAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2019

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Duru SANCAR tarafından hazırlanan **"Türkiye'de Yayılış Gösteren *Salsola* (Amaranthaceae) Türlerinin *psbB-psbH* Kloroplast Genler Arası Bölgesi DNA Dizilerine Dayalı Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması"** adlı tez çalışması 27/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Emre YAPRAK
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Başkan: Doç. Dr. Aslı DOĞRU KOCA
Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Ahmet Emre YAPRAK
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdür V.

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

27.06.2019



Duru SANCAR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN *SALSOLA* (AMARANTHACEAE) TÜRLERİNİN *PSBB-PSBH* KLOROPLAST GENLER ARASI BÖLGESİ DNA DİZİLERİNE DAYALI FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Duru SANCAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Emre YAPRAK

Bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren Amaranthaceae familyasından *Salsola* cinsine ait tür ve tür altı taksonların filogenetik ilişkileri kloroplast *psbB-psbH* genler arası bölgesi DNA dizileri kullanılarak araştırılmıştır. Bunun için her taksonu temsilen bir bireyden tüm genom DNA özütlemesi yapılmıştır. Kloroplast genomundan *psbB-psbH* genler arası bölgesi uygun primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonları (PZR) ile çoğaltılmış ve saflaştırma ve dizileme işlemleri yapılmıştır. Elde edilen DNA dizi okumaları kontrol edilip düzenlendikten sonra gen bankalarından sağlanan *Salsola* cinsinin ülkemizde bulunmayan türlerine ait *psbB-psbH* genler arası bölgesi DNA dizileriyle birlikte kullanılarak hizalanmış ve maksimum parsimoni, maximum likelihood ve Bayesian filogeni analizleri için uygun formatta düzenlenmiştir. Filogeni analizleri sonucunda çizilen ağaçlar birbirleriyle ve önceki çalışmalarla kıyaslanmıştır. Bu çalışmada yeni dizilenen taksonların topolojideki konumları ve ağaçların politomi durumları tartışılmış ve problemli grupların açıklanması için çözüm önerileri paylaşılmıştır. Genel olarak topolojiler literatürdeki ağaçlarla uyumlu ve destekler niteliktedir ancak taksonun filogenisinin çözümlenmesi için daha fazla moleküler belirtecin birlikte kullanılarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Haziran 2019, 62 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bitki Sistematiği, Filogeni, Kloroplast Genomu, *psbB-psbH* Genler Arası Bölgesi, *Salsola*, Türkiye, Amaranthaceae

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

PHLOGENETİC STUDY OF *SALSOLA* (AMARANTHACEAE) SPECİES İN TURKEY BASED ON CHLOROPLAST *PSBB-PSBH* İNTERGENİC SPACER SEQUENCES

Duru SANCAR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Department

Supervisor: Doç. Dr. Ahmet Emre YAPRAK

In this study, the phylogenetic relationships of species and subspecies taxa belonging to the genus *Salsola* from the *Amaranthaceae* family, which is spreading in our country, were investigated by using DNA sequences of chloroplast *psbB-psbH* genes. For this, all genomic DNA extraction was done for each taxon as an individual. The region of the *psbB-psbH* gene from the chloroplast genome was amplified by Polymerase Chain Reactions (PCR) using appropriate primers and purified and sequenced. After the obtained DNA sequence readings were checked and regulated, The *psbB-psbH* intergenic regions of the genus Salsola from the gene banks was aligned with the DNA sequences and arranged in a format suitable for maximum parsimony, maximum likelihood and Bayesian phylogeny analysis. Trees plotted as a result of phylogeny analysis are compared with each other and with previous studies. In this study, the positions of the newly sequenced taxa in the topology and the politomy of the trees are discussed and the solution proposal for the problematic groups is shared. In general, topologies are compatible and supportive to the trees in the literature, but more molecular markers must be used together to solve the taxon phylogeny.

June 2019, 62 pages

Key Words: Plant Taxonomy, Phylogeny, Chloroplast Genome, *psbB-psbH* Intergenic Spacer, *Salsola*, Turkey, Amaranthaceae

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde her konuda desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ahmet Emre YAPRAK'a (Ankara Üniversitesi, Biyolojji Anabilim Dalı), Prof. Dr. Gül Nilhan TUĞ'a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) ve Dr. Golshan ZARE'ye (Hacettepe Üniversitesi, Farmasotik Botanik Anabilim Dalı) üzerimdeki tüm emekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte yanımda olan, akademik ve manevi desteklerini her zaman yakından hissetiğim Deniz SUNTUR'a, Begüm ERDEM'e, Güliz DOĞAN'a, Dr. Ebru SAĞ'a, Öğr. Gör. Dr. İsa BAŞKÖSE'ye (Ankara Üniversitesi, Botanik Anabilim Dalı), Öğr. Gör. Dr. Güzin EMECEN'e (Hacettepe Üniversitesi, Genel Biyoloji Anabilim Dalı), Öğr. Üyesi Dr. Banu Şebnem ÖNDER 'e (Hacettepe Üniversitesi, Genel Biyoloji Anabilim Dalı), Araş. Gör. Dr. Emre ÇİLDEN'e (Hacettepe Üniversitesi, Botanik Anabilim Dalı), Altay KOYAŞ'a, Ahmet Cemil ÖZTURHAN'a, Cansu DOĞAN'a, Dr. İnci Bahar ÇINAR'a, Gül AYYILDIZ'a, Merve ÖRNEK YILDIRIM'a, Batıkan GÜNAL'a, Doç. Dr. Barış ÖZÜDOĞRU'na (Hacettepe Üniversitesi, Botanik Anabilim Dalı) ve Dr. Öğr. Üyesi Saniye Cevher ÖZEREN'e (Ankara Üniversitesi, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı) pek kıymetli destekleri için çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca karşılıksız sevgileri ve emekleri için başta annem Yasemin KÖKEN, babam Cem SANCAR ve abim Yoldaş Gökhan ILGAR olmak üzere tüm aileme teşekkürü borç bilirim.

Duru SANCAR
Ankara, Haziran 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vii**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Cinse Ait Genel Bilgiler ve Taksonomisi **1**
1.2 Moleküler Taksonomi **3**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **8**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **12**
3.1 Materyal **12**
3.2 Yöntem **13**
3.2.1 DNA özütlenmesi **13**
3.2.2 Agaroz jelin hazırlanması **14**
3.2.3 DNA özütlerinin agaroz jelde kontrolü **14**
3.2.4 DNA özütlerinin spektrofotometrik ölçümleri **15**
3.2.5 *psbB-psbH* için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) **17**
3.2.6 PZR ürünlerinin saflaştırılması ve dizileme **18**
3.2.7 Dizi eşleştirmesi ve Consensus dizilerin eldesi **21**
3.2.8 Parsimony, Maximum Likelihood ve Bayesian analizleri **22**
4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR **33**
5. SONUÇ VE TARTIŞMA **40**
KAYNAKLAR **43**
EKLER **46**
ÖZGEÇMİŞ **62**

SİMGELER DİZİNİ

km	Kilometre
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
µmol	Mikromol
pmol	Pikomol
ng	Nanogram
℃	Celcius/Santigrat
V	Volt

Kısaltmalar

EtBr	Etidyum Bromür
DMSO	Dimetil sülfoksit
TBE	Tris/Borate/EDTA
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RPM	Revolutions per minute/ Dakikada Devir
UV	Ultraviyole/ Morötesi
RNaz	Ribonükleaz
DNaz	Deoksiribonükleaz
DNA	Deoksiribonükleikasit
TaqPol	Taq Polimeraz
dNTP	Deoksinükleotid
PZR Suyu	Polimeraz Zincir Reaksiyonu Suyu/ Pür Distile Su
NCBİ	National Center for Biotechnology Information
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
CTAB	Cetyl Trimethylammonium Bromide
NAD-malik	Malik Dehidrogenaz
bç	Baz çifti

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Haloxylon cinsinin iki türü için tüm kloroplast genomu……..…..... 6

Şekil 1.2 Haloxylon cinsinin iki türü için *psbB-psbH* kloroplast gen bölgeleri yakınlaştırılmış görseli……..7

Şekil 3.1 *Salsola nitraria* Pall. (fotoğraf Prof. Dr. Ahmet Emre YAPRAK) 12

Şekil 3.2 Yükleme sırasıyla CH1, CH11, CH3, CH39, CH14, CH5, CH10, CH32, CH62, CH63, CH184, CH13, CH12, CH68, CH69 kodlu örneklerin DNA özütlerine ait jel görüntüsü…… 15

Şekil 3.3 Yükleme sırasıyla K, CH205, CH12, CH10, CH34, CH14, K, CH184, CH202, CH11, K, CH1, CH3, CH28, CH39, CH62, K, CH70, CH71 kodlu örneklerin PZR ürünlerine ait jel görüntüsü……...18

Şekil 3.4.a Yükleme sırasıyla CH184, CH202, CH12, CH25, CH205 kodlu örneklerin PZR pürifikasyonu sonrası elektroforez jel görüntüsü……...19

Şekil 3.4.b Yükleme sırasıyla CH28, CH39 kodlu örneklerin PZR pürifikasyonu sonrası elektroforez jel görüntüsü……...20

Şekil 3.5 BioEdit programında DNA dizilerinin tek yönlü okuma görüntüsü……... 21

Şekil 3.6 DNA dizilerinin hizalanması (alignment) işlemini gösteren görsel…… 22

Şekil 3.7 Bayes analizinde yakma işlemi (burn-in) için gerekli jenerasyon sayısı ve denge fazı grafiği…….….. 31

Şekil 4.1 Maksimum Parsimoni ağacı ……... 34

Şekil 4.2 Maksimum Likelihood ağacı…….….. 36

Şekil 4.3 Bayes ağacı…….…. 38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan DNA özütlerinin tür adı, çalışma kodu ve spektrofotometrik ölçümleri 15
Çizelge 3.2 PZR pürifikasyonu sonrası ilgili örneklerin tür adı, çalışma kodu ve spektrofotometrik ölçümleri 20
Çizelge 3.3 Nükleotid yer değişim matriksi ……..… 24
Çizelge 3.4 JC kabullü nükleotid yer değişim matriksi……..… 24
Çizelge 3.5 K2P kabüllü nükleotid yer değişim matriksi…….….. 24

1. GİRİŞ

1.1. Cinse Ait Genel Bilgiler ve Taksonomisi

Salsola L. cinsi, *Amaranthaceae* familyası içerisindeki büyük cinslerden biridir. Familya üyeleri dünyada çöllerde, nehir ağızlarında veya alkali alanlarda, tropik ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren kozmopolit taksonlardır (Kadereit vd. 2003). Ekomorfolojik ve anatomik özellikleri açısından oldukça çeşitlilik gösteren taksonlar genellikle sukkulent yapıdadır ve bu taksonlarda geç çiçeklenme ve meyvelenme dönemi gözlenmektedir (Akhani 2007).

Yaklaşık 110 cins ve 1700 türle (Kadereit vd. 2003) dünyada temsil edilmekte olan *Amaranthaceae* familyası, ülkemizde 32 cinse ait toplam 155 türle temsil edilmektedir (Yaprak 2012). Ülkemizdeki 32 taksondan 13 tanesi endemik olup, endemizm oranı %9,3 olarak bilinmektedir. Familya C_3 ve C_4 fotosentez yolaklarını kullanan bitkileri birlikte içermektedir. Bu sebeple C_4 fotosentez yolağının evrimini açıklamada anahtar görevi görmektedir. Familya içerisindeki 45 cinsin ve yaklaşık 550 türün C_4 bitkisi olduğu bilinmektedir (Sage 2001). Buna ek olarak C_4 bitkilerinin kendi içerisinde iki farklı yaprak anatomisine sahip olması, yolağı kullanan taksonların filogenetik ilişkilerinin çok orijinli olduğuna kanıt olarak öne sürülmektedir (Kadereit 2003, 2011, 2012).

Amaranthaceae familyasının filogenisi çekirdek ribozomal ITS ve 6 kloroplast DNA bölgesi (*rbcL, ndhF, matK/trnK* genleri ve *atpB-rbcL, psbB-psbH, trnL-trnF* genler arası bölgeleri) dizileri kullanılarak, yıllar içerisinde farklı araştırmacılar tarafından araştırılmış (APG (Angiosperm Phylogeny Group) 1998, APG II 2003 ve APG III 2009, APG IV 2016, Pyankov vd. 2001, Pratt 2003, Kadereit vd. 2003, 2006, 2011; Schütze vd. 2003; Müller ve Borsch 2005; Shepherd vd. 2005; Kapralov vd. 2006; Wen vd. 2010) ve farklı farklı taksonomik ilişkiler önerilmiştir. Güncel olarak *Amaranthaceae* familyası; *Betoideae, Chenopodioideae, Camphorosmoideae, Salicornioideae, Salsoloideae* ve *Suaedoideae* olmak üzere 6 alt familya ile sınıflandırılmaktadır. *Salsola L.* cinsi, *Salsoloideae* alt familyası, *Salsoleae* tribusu içerisinde yer almakta olup

dünyada 178 türle temsil edilmektedir. (Anonim 2017, Web sitesi http://www.theplantlist.org/, Erişim tarihi 10.10.2017)

Salsoleae tribusundaki ilk filogenetik analiz *ITS* dizileri ile çalışılmışve analiz sonuçlarında monofiliye dair yeterli kanıt elde edilememiştir (Pyankov vd. 2001). Kadereit v.d. 2003 yılındaki kloroplast *rbcl* DNA dizilerini kullanarak yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Devam eden çalışmalarda moleküler belirteç sayılarının ve örneklem büyüklüğünün arttırılması ile *Salsoleae* tribusunun monofiletik bir grup olduğu netleşmiştir (Kapralov vd. 2006; Akhani vd. 2007; Wen vd. 2010).

Salsola cinsi, Türkiye Bitkileri Listesine (Damarlı Bitkiler) ve yeni kayıtlara göre ülkemizde 23 taksonla temsil edilmektedir (Aellen 1967, Davis vd. 1966 ve 1988, Freitag 1997 ve 2000, Sorger 2000). Bu taksonlardan *S. stenoptera* Wagenitz, *S. Anatolica* Aellen, *Salsola boissieri* subsp. *serpenticola* (Freitag & Özhatay) Freitag & Uotila, *Salsola grandis* Freitag, Vural & Adıgüzel, *Salsola turcica Yıld., Salsola cyreniaca (*Maire&Weiller) Brullo subsp. *antalyensis* endemik olanlardır.

Cins ismini latince tuzlu anlamına gelen "salsus" kelimesinden almaktadır. *Salsola* ismi ilk kez Linnaeus tarafından 1753'te *Species Plantarum* kitabında yayınlanmış olup, cinsin tip örneği *Salsola soda* L.'dır. *Salsola* türleri genellikle çalılıklar, küçük ağaçlar ya da nadiren tek yıllık topluluklar olarak görülmektedir. Yapraklar genellikle alternat dizilişli, nadiren karşılıklı, basit ve kenarları tüm yapıdadır. İki eşeyli çiçekler 5 tepal ve 5 stamenden oluşur ve pistil 2 stigmayla sonlanır. Meyveleri ise spiral embriyolu ve perispermsizdir.

Türkiye'de yayılış gösteren *Salsola* taksonlarından; *Salsola anatolica, Salsola boissieri* subsp. *serpenticola, Salsola crassa, Salsola grandis, Salsola macera, Salsola stenoptera, Salsola turcica, Salsola verrucosa, Salsola cyreniaca* türlerinin önceki çalışmalarda *psbB-psbH* genler arası bölgesi dizilerinin çalışılmamış olması tezin özgün değerini oluşturmaktadır.

1.2. Moleküler Taksonomi

Organizmaların tanımlanmaları, tanınmaları, isimlendirilmeleri ve canlılığın evrimsel geçmişini yansıtacak biçimde sınıflandırılmaları hedeflerini kapsayan bilime taksonomi adı verilmektedir. Taksonomi çalışmaları geleneksel olarak morfolojik ve anatomik karakterlerden edinilen bilgilere dayalı olarak yürütülmektedir. Bununla birlikte, ilerleyen yıllarda teknolojinin gelişmesi ile moleküler taksonomi adı verilen yeni bir yaklaşım gelişmiştir. Moleküler taksonomi, organizmaların makromoleküllerinden elde edilen bilgiler ışığında filogenetik ilişkilerin açıklanması prensibine dayanmaktadır. Moleküler veriler proteinlerden, DNA dizilerinden, DNA restriksyon bölgelerinden, allozimlerden, mikrosatellitlerden, RAPD ve AFLPlerden elde edilebilmektedir. Moleküler verilerin uygun metodoloji ile çalışılması sonucu akrabalık ilişkisini açıklayan geleneksel taksonomiye alternatif kaynaklı bilgiler elde edilmektedir. (Simpson 2012).

Organizmaların filogenetik ilişkilerinin açıklanmasında en önemli moleküler taksonomi metotlarından birisi DNA dizi analizleridir. Bu metodoloji temel olarak, incelenecek organizmaların DNA'larının belirli bir bölgesine ait nükleotid dizilerinin tespit edilmesi, çoğaltılması, okunması ve homolog DNA bölgelerinin birbirleriyle kıyaslanması sonucu akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi aşamalarından oluşmaktadır (Salemi 2009).

Metot öncelikle incelenecek organizmalara ait genomik DNA izolasyonuyla başlamaktadır. Bunun için CTAB metodu ya da ticari kitler kullanılabilmektedir. Temel olarak organizmaya ait doku kum, boncuk ya da sıvı azot kullanılarak öğütülmekte ve DNA harici makromoleküller ortamdan ayrıştırılmaktadır. Sonrasında elde edilen genomik DNA, spesifik DNA fragmentleri (primerler) kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) adı verilen bir metodla araştırılmak istenen gen bölgesine indirgenmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu, rekombinant DNA teknolojisi gelişimi sürecinde in vitro koşullarda gen kopyalamaya imkân vermesi ve klonlamanın bazı sınırlamalarını- zaman, görece saf ve fazla miktarda kaynak DNA gereksinimi vb.- gidermesi sebebiyle biyolojik araştırmalarda sıklıkla tercih edilen bir tekniktir (Reece vd. 2014, Simpson 2012).

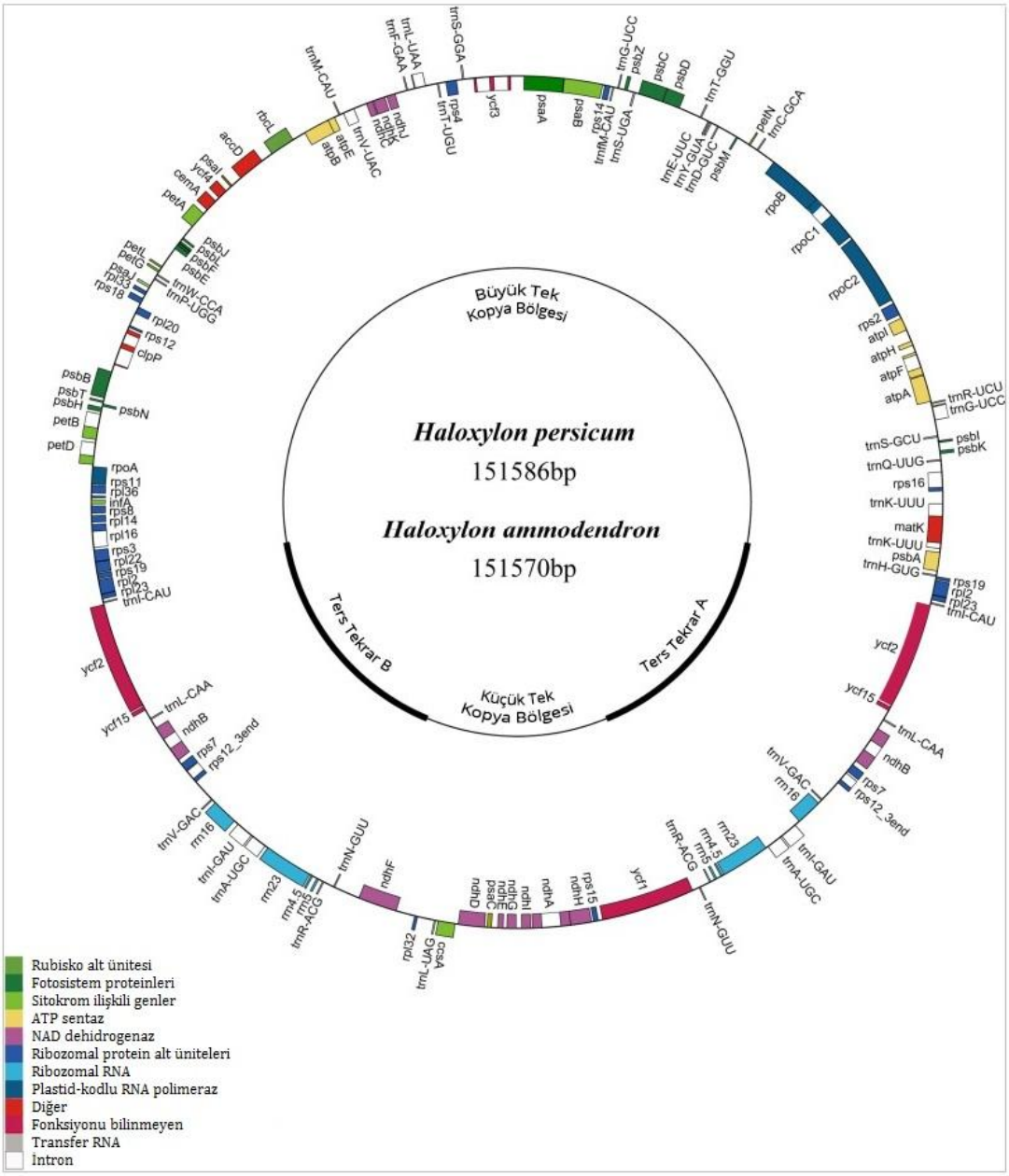
PZR; bir örnekten izole edilen ve saflaştırılan DNA, primerlerin çok sayıda kopyaları, serbest nükleotidler, DNA polimeraz enziminin ısıya dayanıklı bir formu (genellikle Taq polimeraz), tampon ve tuzlardan oluşan bir solüsyonun temel olarak üç adımda çalışılmasıyla uygulanır. İlk adımda, çoğaltılacak kalıp DNA 90-95°C'de denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. İkinci adımda, sıcaklık 50-70°C arasında bir değere düşürülerek primerlerin tek zincirli DNA'ya bağlanması sağlanır. Üçüncü adımda ise; reaksiyon karışımındaki Taq polimeraz, nükleotidleri 5'den 3'ne doğru ekleyerek primerlerin uzamasını sağlar ve hedef bölgenin komplementer dizisi sentezlenir (Reece vd. 2014, Simpson 2012).

Yukarıda bahsedilen üç adım bir reaksiyon döngüsünü tanımlar ve PZR bir zincir reaksiyonudur, çünkü her döngüde sentezlenen DNA dizileri bir sonraki döngü için kalıp DNA görevi görmektedir. Bu sayede her döngüde yeni DNA zincirlerinin sayısı iki katına çıkmakta ve döngünün 25-30 kez tekrarlanması sonucu DNA kopya sayısı milyon katdan fazla olmaktadır. Bu işlem ısı döngücüsü adı verilen makinelerde önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları ayarlanarak otomatik olarak gerçekleştirilmektedir (Reece vd. 2014, Simpson 2012).

İlgili gen bölgesinin PZR ile çoğaltılmasından sonra dizileme adı verilen okumalar yapılmaktadır. Dizileme işleminde saflaştırılmış PZR ürünü, DNA polimeraz, primerler, serbest nükleotidler ve dideoksinükleotidlerin (hidroksil grupları olmayan her biri farklı bir florasan boyaya bağlanacak şekilde sentezlenmiş nükleotid benzeri bileşikler) bulunduğu solusyon hazırlanarak PZR de olduğu gibi örnek DNA, çift zincir açılana ve iki komplementer DNA zinciri ayrılana kadar ısıtılır. Bu sırada DNA ipliklerinden birinin sabit bölgesine bir primer bağlanır ve solüsyondaki serbest nükleotidler, örnek DNAyı kalıp olarak kullanıp DNA polimeraz ile katalizlenerek primerin 3'ucuna bağlanır. Böylece DNA ipliğinin replike olan bir kopyası oluşmaya başlar. PZR den farklı olarak bazı noktalarda, yeni ipliğe bir nükleotid yerine dideoksinükleotid bağlanır. Dideoksinükleotidler zincire bir kez bağlandığında hidroksil grubundan yoksun olmaları DNA polimerazın başka bir nükleotid bağlamasına engel olur ve yeni DNA ipliğinin sentezi son bulur. Böylece reaksiyon karışımında, replike edilen genin herhangi bir

noktasında sonlanmış, her biri farklı uzunluklarda olan binlerce DNA ipliği bulunacaktır. DNA dizilemesinde son basamak, farklı uzunluklardaki bu kopyaların elektroforeze mağruz bırakılmasıdır. Bu sayede en uzun DNA ipliğinden en kısasına doğru iplikler jel veya kapiller sistem üzerinde sıralanır. Her DNA ipliği özgün renkte florasan ışıma yapacak dideoksinükleotidle sonlandığı için göç sırasında yayılan ışığın dalga boyu belirlenir ve pik (tepe noktası) olarak kayıt edilir. Kaydedilen her bir dalga boyu dört farklı dideoksinükleotid tarafından oluşturulduğu için bu dalga boyuyla ilişkili nükleotidler belirlenebilir ve DNA ipliklerinin göç zamanından dizideki pozisyonu belirlenebilir. Bu sayede istenilen gen bölgesinin nükleotid dizisi belirlenebilmektedir (Reece vd. 2014, Dong 2016).

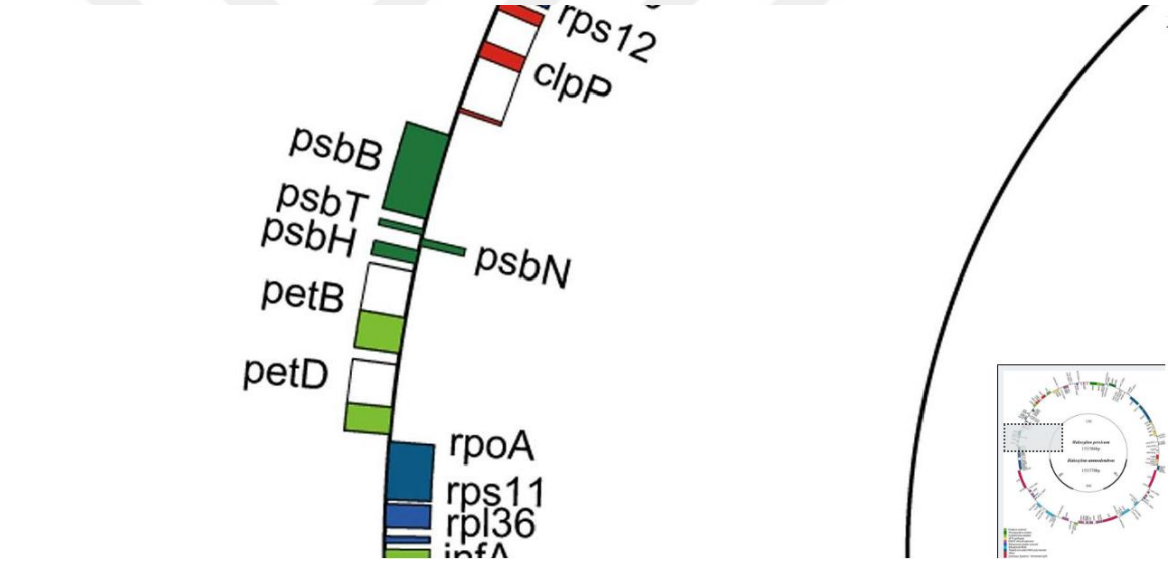
DNA dizilerinin hücresel kaynağı çekirdek, mitokondri ya da kloroplast organelleri olmak üzere çeşitlilik göstermektedir. Bu tez çalışmasında kloroplast kaynaklı DNA dizileri kullanılmıştır. Kloropast genomu dört temel bölümden oluşmaktadır. Bunlar; büyük tek kopya bölgesi, küçük tek kopya bölgesi, ters tekrar A ve ters tekrar B bölgeleridir. Aşağıdaki görselde *Haloxylon* cinsine ait iki türün tüm genom değerlendirmesi sonucu kloroplast gen bölgeleri ve fonksiyonları gösterilmektedir (Simpson 2012, Dong 2016).



Şekil 1.1 *Haloxylon* cinsinin iki türü için tüm kloroplast genomu (Dong 2016)

Görselden de anlaşılabileceği üzere kloroplast genomunda genler ve genler arası bölgeler birlikte bulunmaktadır (Dong 2016). Genler arası bölgeler transkripte olmamaktadır. Bu sebeple gen bölgelerine göre daha az korunmuş ve daha fazla mutasyon biriktiren bölgelerdir. Bu durum filogenetik çalışmalarda kodlanmayan bölgeleri, tür ve tür altı seviyelerdeki taksonomik analizler için daha kullanışlı yapmaktadır (Walker 2006).

psbB-psbH genler arası bölgesi, kloroplast genomunda büyük tek kopya içerisindeki 4 gen bölgesini ve 3 genler arası bölgeyi temsil etmektedir. Bunlar sırasıyla *psbB* gen bölgesi, *psbB-psbT* genler arası bölgesi, *psbT* gen bölgesi, *psbT-psbN* genler arası bölgesi, *psbN* gen bölgesi, *psbN-psbH* genler arası bölgesi ve *psb*H gen bölgesi olmak üzere kloroplast genomu üzerinde sıralanmaktadır. *psbB* gen bölgesi fotosistem II P680 klorofil A apoprotein sentezinde, *psbT* gen bölgesi fotosistem II protein T sentezinde, *psbN* fotosistem II reaksiyon merkezi N proteini sentezinde, *psbH* fotosistem II reaksiyon merkezi H proteini sentezinde işlevseldir. (Walker 2006)



Şekil 1.2 *Haloxylon* cinsinin iki türü için *psbB-psbH* kloroplast gen bölgeleri yakınlaştırılmış görseli (Dong 2016)

Literatürde *psbB-psbH* genler arası bölgesi *Salsola* cinsi için pek çok taksonda çalışılmıştır. Kıyaslanabilir verinin bulunması gerekçesiyle bu tez çalışması için tercih edilmiştir. (Cates 2006)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Aellen 1967'de Türkiye Florası 2. Cildinde ülkemizde 14 *Salsola* türünün varlığını bildirmiştir. Sonrasında Türkiye Florası 10. cildine 1930 yılında Iljin, *Salsola nodulosa*; Türkiye Florası 11. cildine 1999 yılında Freitag, yeni tür kaydı olarak yayınlanan *Salsola grandis* ve 1997 yılında Freitag ve Özhatay, yeni alt tür kaydı olarak yayınlanan *Salsola canescens* subsp. *serpentinicola* taksonlarını eklemiştir. 1999 yılında Rilke, *Salsola tamamschjaneae;* 2000 yılında Sorger, *Salsola brachiata* ve *Salsola ericoides* türlerini ülkemizden kaydetmişlerdir. 2000 yılında Freitag ve Duman, *Salsola cyrenaica* subsp. *antalyensis* taksonunu ülkemizden yeni alt tür kaydı olarak yayınlamışlardır. 2015 yılında Burullo vd. tarafından Yunanistan'dan yeni tür kaydı olarak yayınlanan *Kali dodecanesicum* türü, 2016 yılında Yaprak vd. tarafından gerçekleştirilen "Türkiye'de yayılış gösteren *Salsola* (*Amaranthaceae*) cinsinin taksonomik ve filogenetik revizyonu." isimli proje raporunda ülkemizden kaydedilmiştir. Yeni kayıtlar ve sinonime düşen taksonlar birlikte değerlendirildiğinde Türkiye'deki *Salsola* taksonlarının güncel sayısının 23 olduğu bilinmektedir.

Pyankov vd. 2001 yılında *Salsoleae* tribusunda yaptığı ribozomal ITS dizilerine dayanan filogeni analizinde fotosentez mekanizması ve yaprak anatomisi açısından bu tribusun iki ana kökeninin bulunduğunu öne sürmektedir. Çalışmada 34 *Salsola* türü ve ilgili cinsler olan *Halothamnus, Climacoptera, Girgensohnia, Halocharis* ve *Haloxylon* taksonları ve dış grup olarak *Camphorosmeae* tribusundan *Camphorosma lessingii, Kochia prostrata, Kochia scoparia* ve *Atripliecae* tribusundan *Atriplex spongiosa* taksonları kullanılarak yapılan parsimoni analizi sonucu NAD-ME ve NADP-ME olmak üzere iki farklı fotosentez mekanizması ilişkisi gösterilmiştir. Önerilen parsimoni ağacında C_4 fotosentez yolağı tek bir kök ile temsil edilirken, C_3 fotosentez yolağı iki bağımsız atasal kök ile gösterilmektedir. Bu durum muhtemelen C_4 fotosentezinin C_3'den önce evrildiğinin kanıtı olarak öne sürülmekle birlikte kesin bilgiye erişim için takson sayısının arttırılarak ek çalışmaların yapılması gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu çalışmada ayrıca Botschantzev'in 1969 yılında önerdiği biyocoğrafik dağılım hipotezinin aksine, *Salsoleae* tribusunun orijininin Afrika yerine merkez Asya olduğu ve buradan Afrika, Avrupa ve Moğolistan'a dağıldığı önerilmiştir.

Kadereit vd. 2003 yılındaki yayında, kloroplast *rbcL* DNA dizilerini kullanarak *Amaranthaceae* ve *Chenopodiaceae* familyalarının filogenetik ilişkilerini ve C_4 fotosentezinin evrimini açıklamaktadırlar. Çalışmalarında *Amaranthaceae* ve *Chenopodiaceae* familyalarından toplam 108 tür ve dış grup olarak *Caryophyllales* ordosundan 29 tür kullanılarak, maksimum parsimoni ve maksimum likelihood analizleri sonucu iki familyanın *Achatocarpaceae* familyasına kardeş yüksek güvenilirlikle desteklenen monofiletik kladlar olduklarını öne sürmektedir. Geniş örneklem büyüklüğüne rağmen *Amaranthaceae* ve *Chenopodiaceae* familyaları arasındaki ilişki kısa ve zayıf güvenilirlik oranlarına sahip taban dalların bir sonucu olarak belirsizdir. Çalışmada *Chenopodiaceae* familyasının alt familyası olarak kabul edilen *Polycnemoideae* yüksek güvenilirlikle monofiletiktir ve *Amaranthaceae* familyasına kardeş olarak önerilmektedir. Çalışmada *Amaranthaceae* içerisinde *Gomphrenoideae* ve *Celosieae* taksonları haricindeki önemli bağlantılar tanımlanmıştır. *Chenopodiaceae* içerisinde *Betoideae* cinsi, tabanda ve büyük oranda çözülmemiş bir pozisyonda bulunmaktadır. Familyadaki diğer cinsler ise, ilişkisi net açıklanamayan üç büyük klada ayrılmıştır: *Chenopodioideae* (*Atripliceae s.str., Chenopodieae* I-III); *Corispermoideae* (*Corispermeae*); ve Salicornioideae (*Haplopeplideae, Salicor- nieae*), *Suaedoideae* (*Suaedeae, Bienertieae*), ve *Salsoloideae* (*Camphorosmeae, Sclerolaeneae, Salsoleae* I-II). Elde edilen *rbcl* ağaçları ayrıca tarihsel sınıflandırmayı ve morfolojik kanıtları büyük kladlar için doğrulamaktadır. Moleküler sonuçlar bu iki familyadaki C_4 fotosentezinin evrimini açıklamak için kullanışlıdır. Buna göre C_4 fotosentezi, *Amaranthaceae* familyasında en az üç defa ve *Chenopodiaceae* familyasında en az on defa birbirinden bağımsız olarak evrilmiştir. C_4 yaprak anatomisi gözlemlendiğinde ise farklı kökenli 17 farklı yaprak tipi olduğu çalışmada açığa kavuşturulmuştur. Moleküler saat uygulaması sonucu C_4 fotosentezinin yaşı *Atriplex* cinsinde 11.5-7.9 Ma ve *Salsoloideae* alt familyasında 21.6-14.5 Ma olarak tespit edilmiştir. Araştırma grubu 2005 yılındaki yayınlarında, *rbcl* dizilerini kullanarak yaptıkları çalışmaya çekirdek ribozomal ITS dizilerini de dahil ederek Avustralya'daki *Chenopodiaceae* taksonlarının kökenini ve yaşını araştırmışlardır. Kadereit vd. 2006 yılında *Salicornioideae* özelinde çalışmalarını sürdürmüştür.

Kaprolov vd. 2006 yılındaki çalışmalarında *Amaranthaceae* familyasının C_3 ve C_4 fotosentezi yapan taksonları birlikte içeren ve Kranz anatomisi gösterip göstermeme durumuna göre C_4 taksonlarının çeşitlilik gösterdiği bir grup olduğunu bildirmişlerdir. Bu sebeple C_4 fotosentezinin evriminin açıklanmasında familya taksonlarının önemli bir rolü vardır. Familyadaki *Atriplex* haric tüm C_4 cinsleri *Salicornioidea / Suaedoideae / Salsoloideae* s.l. kaldlarında bulunmaktadır. Bu çalışmada Kranz anatomisi göstermeyen C_4 cinslerinden *Bienertia* özelinde ana kladların ilişkisi çekirdek ribozomal ITS ve 5 kloroplast (*atpB-rbcl, matK, psbB-psbH, rbcL* ve *trnL-trnF*) DNA bölgesi dizileri kullanılarak maksimum parsimony, maksimum likelihood ve Bayesian filogenetik analizleri ile çalışılmıştır. Ayrıca *Alexandra* ve *Suaeda* cinsleri için detaylı akrabalık ilişkisi ITS, *atpB-rbcL* ve *psbB-psbH* moleküler belirteçleri üzerinden önerilmektedir. Çalışmanın sonucunda moleküler veriler; *Salicornioidea / Suaedoideae / Salsoloideae* s.l. kaldlarının monofiletik olduğunu, *Salicornioidea / Suaedoideae* kaldlarının monofiletik olduğunu, *Salicornioideae, Suaedoidea* (*Bienertia* dahil) ve *Salsoloideae* s.l. alt ailelerinin monofiletik olduğunu, *Suaedeae, Salsoleae* ve *Camphorosmeae* tribuslarının monofiletik olduğunu, *Halopeplideae* eklendiği taktirde Salicornieae taksonunun monofiletik olduğunu ve *Alexendra* eklendiğinde *Suaeda* taksonunun monofiletik olduğunu yüksek güvenilirlikle desteklemektedir. Ayrıca bu çalışmayla *Alexandra lehmannii, Suaeda lehmannii* adıyla tekrar sınıflandırılmış ve *Alexandra* seksiyonunda *Suaeda* yeni seksiyon olarak yaratılmıştır. Kranz C_4 anatomisine sahip iki paralel kök (*Salsina* s.l. ve *Schoberia* seksiyonlarındaki *Suaeda* taksonlarında) ve Kranz anatomisi göstermeyen C_4 sistemlerinde iki bağımsız kök (*Bienertia* ve *Borszczowia* seksiyonunda *Suaeda* taksonlarında) olmak üzere C_4 fotosentezinin *Suaedoidea* içerisinde 4 bağımsız kökü olduğu çalışmada bildirilmektedir.

Akhani vd. 2007 yılındaki çalışmalarında çekirdek ribozamal ITS ve kloroplast *psbB-psbH* DNA dizilerini kullanarak maksimum parsimoni ve maksimum likelihood analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma verileri; *Camphorosmeae* ve *Salsoleae* s.l. taksonlarının kardeş olduklarını, *Salsoleae* s.l. kladının *Salsoleae* s.s. ve *Caroxyloneae* olmak üzere iki monofiletik tribusa ayrıldığını, *Salsoleae* içerisindeki çoğu monotipik ya da oligotipik cinsin güncel durumlarını koruduğunu, Botschantzev ve Freitag'ın öne

sürdüğü *Salsola* cinsinin polifili durumunu (en fazla 10 monofiletik bağlantı önerilmektedir) yüksek güvenilirlikle desteklemektedir. Filogeni ağacında yüksek güvenilirlikle desteklenen üç yeni cins (Pyankovia, *Kaviria, Turania*) tanımlanmış ve önceden tanımlanmış dört cins (Caroxylon, *Climacoptera, Kali* ve *Xylosalsola*) yeniden konumlandırılmıştır. Salsola s.s. taksonu, merkez ve güneybatı Asya ve kuzey Afrikada yayılışı bulunan *Salsola sect. Salsola s.s., Salsola* sect. *Caroxylon* subsect. *Coccosalsola*, *Salsola* sect. *Obpyrifolia, Fadenia, Hypocylix, Seidlitzia* ve *Darniella* taksonlarını kapsamaktadır. *Caroxyloneae* tribusundaki şimdiye kadar araştırılan tüm türlerin NAD-malik enzim alt ünitesine sahip C_4 fotosentez mekanizmasını kullandıkları bildirilmiştir. Genellikle NAD-malik enzim alt ünitesi varlığının *Salsoleae* s.s. türlerinde gözlemlendiği aynı çalışmada belirtilmiştir.

Wen vd. 2010 yılında *Salsoleae* s.l. taksonunda yaptıkları çalışmada filogeniyi yeniden belirlemek ve büyük alt grupların monofilisini doğrulamak için Çin'de yayılış gösteren *Salsoleae* s.l. türlerinin neredeyse hepsini temsilen toplam 52 türde çekirdek ribozomal ITS, kloroplast *psbB-psbH* ve *rbcL* DNA dizilerini kullanılarak makimum parsimoni, maksimum likelihood ve Bayesiyan analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın moleküler verileri; önceki çalışmalarda kardeş olarak nitelendirilen *Camphorosmeae* ve *Salsoleae* s.l. taksonlarının *Salsoleae* s.l. içerisinde birleştiğini, *Salsoleae* s.l. tribusunun monofiletik olduğunu ve üç monofiletik alt birimden (Caroxyloneae, *Kali* kaldı ve Salsoleae s.str.) oluştuğunu, *Climacoptera* taksonunun *Salsola* s.l. içerisinden çıkartılmasını ve *Climacoptera* taksonunun monofiletik bir grup olmamakla birlikte *Climacoptera* I *ve Climacoptera* II olmak üzere iki monofiletik alt gruba ayrıldığını, *Halogeton* taksonunun *Anabasis* ve *Salsola s.l.* cinslerinde de olduğu gibi açıkça polifiletik olduğunu, *Caroxylon, Haloxylon, Kali* ve *Petrosimonia* cinslerinin açıkca monofiletik gruplar olduğunu yüksek güvenilirlikle desteklemektedir. *Halimocnemis* taksonunun konumunun ise net olmadığı ve monofilisinin kanıtlanması için ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalleri "Türkiye'de yayılış gösteren *Salsola* (*Amaranthaceae*) cinsinin taksonomik ve filogenetik revizyonu" isimli proje sırasında toplanmış ve yaprak örnekleri silika jel içerisinde kurutularak muhafaza edilmiştir. Ülkemizde yayılış gösterdiği bilinen taksonlardan Ağrı ili doğusundan varlığı bilinen *Salsola ericoides* türü arazi çalışmaları sırasında toplanamadığından bu çalışmaya dahil edilememiştir. Çalışmada kullanılan tüm *Salsola* örneklerinin detaylı listesi Ek 1'de sunulmaktadır.



Şekil 3.1 *Salsola nitraria* Pall. (fotoğraf Prof. Dr. Ahmet Emre YAPRAK)

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA Özütlenmesi

Silika jel de saklanmış örneklerden total genomik DNA standart "NucleoSpin Plant II - Macharey-Nagel" üretici firmanın tarafımca modifiye edilmiş protokolü kullanılarak özütlenmiştir. Bu protokol adım adım aşağıda açıklanmıştır.

1. Bitkiye ait yaprak parçaları 40 mg olacak şekilde tartılmış, havan ve havaneli ile ince kum içinde toz haline gelinceye kadar öğütülmüş, sonra bu doku tozu 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
2. Hücreleri lize etmek için, tüplere PL1 tamponu ve 10µl RNaz eklenipvortekslenmiştir. Karışım 30 dakika 65 °C de inkübe edilmiştir. İnkübasyon veriminin arttırılması için süreç sırasında iki kere tüpler ters çevrilerek karıştırılmıştır.
3. Mor halkalı NucleoSpin filtreler, 2 ml'lik beyaz kolonlara yerleştirilip lizat yüklenmiştir. Lizat 13.000 RPM'de 2 dakika santrifüjlenerek hücre kalıntıları ve diğer presipitatlardan arındırılmıştır.
4. Bu aşamada kolondan geçip toplama tüpünde biriken çözelti yeni bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 450 µl PC çözeltisiyle muamele edilip vortekslenmiştir.
5. Yeşil halkalı NucleoSpin 2 filtreler, 2 ml'lik yeni beyaz kolonlarda hazırlanmış ve maksimum 700 ml çözelti filtrelere yüklenerek 13.000 RPM'de 1 dakika santrifüje edilmiştir. (bu aşamada çözeltihacmen 700 ml'den fazla ise işlem tekrarlanmalıdır.) Filtreden süzülen çözelti atılmıştır.
6. Birinci yıkama aşamasında Yeşil halkalı NucleoSpin 2 filtrelere 400 µl PW1 tamponu eklenmiş ve 13.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından filtreden süzülen çözelti atılmıştır.
7. İkinci yıkama aşamasında ise sırasıyla; 700 µl PW2 tamponu eklenip 13.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edilip süzüntü atılmış ve ardından 200 µl PW2 tamponu eklenerek 13.000 RPM'de 2 dakika santrifüj edilip süzüntü atılmıştır.

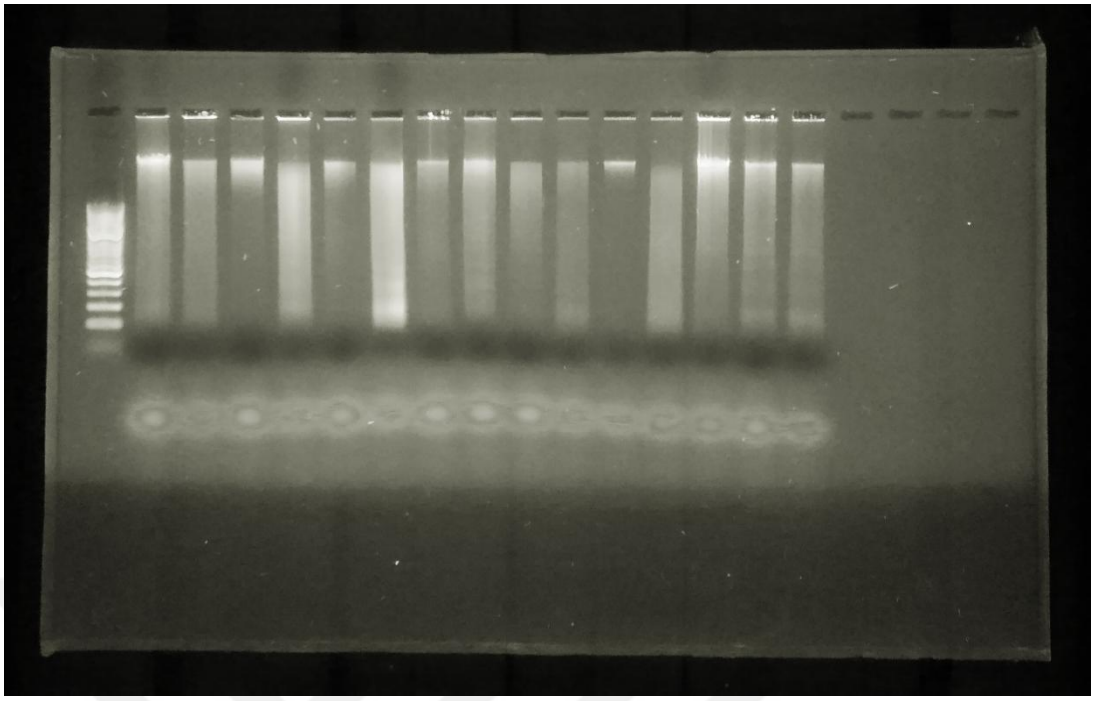
8. Yeşil halkalı NucleoSpin 2 filtreler yeni 5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilip, 65°C 50 µl PE çözeltisi eklendikten sonra 13.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
9. Yeşil halkalı NucleoSpin 2 filtrelere 65°C 50 µl PE çözeltisi eklendikten sonra 13.000 RPM'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
10. Elde edilen 100 µl DNA ekstraktı -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Agaroz Jel'in Hazırlanması

DNA bantlarının kontrolü için 15x10 cm^2'lik jel tankı ve %8'lik agaroz jel karışımı kullanılmıştır. %8'lik agaroz jel karışımı; 0,6 g agar, 75 ml TBE çözeltisi ve 0.75 µl EtBr çözeltisi bileşenlerini içermektedir. Ancak EtBr çözeltisi, karışım mikrodalga fırında 1-2 dk süre ısıtıldıktan ve çözeltinin homojen karıştığından emin olunduktan sonra eklenmiştir. Bunun sebebi EtBr çözeltisinin buharlaşma sebebiyle kaybını önlemektir. Sonrasında jel karışımı tanka dökülmüş, taraklar yerleştirilmiş ve soğumaya bırakılmıştır.

3.2.3. DNA Özütlerinin Agaroz Jel'de Kontrolü

Elde edilen DNA'dan 5 µl DNA ekstraktı ve 2µl yükleme tamponu karıştırılarak %0,8 lik Agaroz jelde 130 V'da 30 dakika koşturulmuştur. Elektroforezden sonra jel tanktan alınıp UV görüntüleyicide incelenmiş ve dijital fotoğrafı çekilerek kontrol edilmiştir.



Şekil 3.2 Yükleme sırasıyla CH1, CH11, CH3, CH39, CH14, CH5, CH10, CH32, CH62, CH63, CH184, CH13, CH12, CH68, CH69 kodlu örneklerin DNA özütlerine ait jel görüntüsü

Simir görünümlü DNA bantları çalışmaya dâhil edilmemiştir. Onların yerine aynı bireyden ya da aynı türü temsil eden başka bireylerden DNA izolasyonu tekrarlanmış ve PZR reaksiyonlarında onlar kullanılmıştır.

3.2.4. DNA Özütlerinin Spektrofotometrik Ölçümleri

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan DNA özütlerinin tür adı, çalışma kodu ve spektrofotometrik ölçümleri

Takson Adı	Çalışma Kodu	ng/µl	260/280	260/230
Salsola boissieri subsp. *serpantinicola*	CH1	164,22	1,93	2,25
Salsola nitraria	CH3	78,63	1,86	1,90
	CH71	26,10	1,90	1,70
Salsola crassa	CH4	62,74	1,94	2,24
Salsola turcica	CH5	70,15	1,72	1,31
	CH62	16,8	1,83	1,70
	CH63	26,8	1,87	1,96

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan DNA özütlerinin tür adı, çalışma kodu ve spektrofotometrik ölçümleri (devam)

Salsola kali	CH10	45,33	1,86	1,5
Salsola verrucosa	CH11	100,72	1,84	1,69
Salsola tamamschjanae	CH12	94,68	1,86	1,79
Salsola macera	CH13	64,69	1,97	2,05
Salsola tragus subsp. *pontica*	CH14	116,30	1,85	1,74
Salsola cyrenaica subsp. *antalyensis*	CH31	10,43	1,80	1,47
Kali dodecanesicum	CH32	56,53	1,70	1,12
*Salsola tragus*subsp. *tragus*	CH33	46,2	1,85	1,55
Salsola anatolica	CH34	49,50	1,80	1,76
	CH184	40,00	1,85	1,70
Salsola soda	CH39	43,00	1,78	1,35
	CH28	12,77	1,75	1,75
Salsola grandis	CH68	71,50	1,92	2,32
	CH69	90,50	1,95	2,26
Salsola dendroides	CH70	20,10	1,85	2,07
Salsola boissieri subsp. *boissieri*	CH101	32,90	1,88	2,09
Salsola inermis	CH25	14,67	1,78	1,18
	CH205	17,7	1,93	1,21
Salsola incanascens	CH53	76,9	5,24	0,65
Salsola stenoptera	CH201	60,10	1,85	1,59
	CH202	63,80	1,86	1,79

Bu çalışmada *Salsola incanascens* taksonundan saf genomik DNA izole edilememiştir. *Salsola laricina* türü için örneklem lokasyonunun ve primer dizisinin literatürdeki çalışmayla aynı olması sebebiyle dizileme reaksiyonları çalışılmamış, diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanından alınmıştır. Ülkemizde yayılışı olduğu bilinen *Salsola brachiata* ve *Salsola ericoides* türleri arazi çalışmaları sırasında toplanamamış olup, *psbB-psbH* DNA dizisi *Salsola brachiata* türü için NCBI veri tabanından indirilerek çalışmaya dahil edilebilmiştir. Çalışmaya veri tabanından

dahil edilen diğer tüm *Salsola* taksonlarının detaylı bilgisi, metnin devamındaki 3.2.7. başlığı altında ilgili tabloda sunulmaktadır.

3.2.5. *psbB-psbH* için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR reaksiyonlarında kullanılmak üzere *psbB-psbH* genler arası bölgesi için dizileri aşağıda verilmiş literatür kaynaklı iki primer dizisi çifti kullanılmıştır.
psbB-psbH (F): 5'-AGA TGT TTT TGC TGG TAT TGA-3' , *psbB-psbH* (R): 5'-TTC AAC AGT TTG TGT AGC CA-3'; Xu vd. 2000 ve psbB:5'-TCC AAA AAN KKG GAG ATC CAA C-3', psbH: 5'-TCA AYR GTY TGT GTA GCC AT -3'Shaw vd. 2005.

Bölgenin amplifikasyonu için reaksiyon karışımı: son konsantrasyonları 2.5 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTPs, 1 pmol/µl primer F, 1 pmol/µl primer R, 0,025 U/µl TaqPol ve %4 (v/v) DMSO olacak şekilde, 150-200 ng DNA ve PZR Suyu ile 50 µl'ye tamamlanarak her bir tüp için hazırlanmıştır. Reaksiyona kaç hacim DNA ekleneceği nanodrop sonuçları göz önünde bulundurularak hesaplanmıştır.

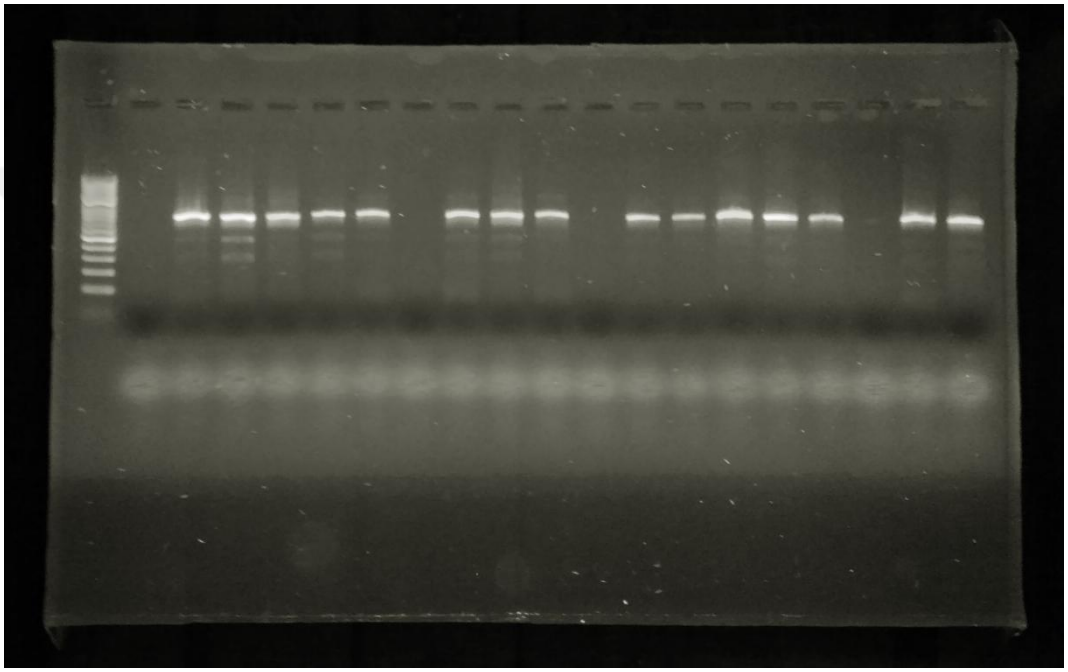
PZR reaksiyonları biri diğerinin modifikasyonu olan iki farklı program kullanılarak çalışılmıştır. Bunun sebebi beş takson için PZR reaksiyonunun birinci programda optimal çalışmamasıdır.

1. PZR Programı

1. adım	94°C 60 sn	
2. adım	94°C 18 sn 55°C 30 sn 72°C 60 sn	35 döngü
3. adım	55°C 78 sn	
4. adım	72°C 8 dk	

2.PZR Programı

1. adım	95°C 3 dk	
2. adım	95°C 15 sn 54°C 15 sn 72°C 30 sn	40 döngü
3. adım	72°C 7 dk	



Şekil 3.3 Yükleme sırasıyla K, CH205, CH12, CH10, CH34, CH14, K, CH184, CH202, CH11, K, CH1, CH3, CH28, CH39, CH62, K, CH70, CH71 kodlu örneklerin PZR ürünlerine ait jel görüntüsü (K harfi, kontrolleri temsil etmektedir.)

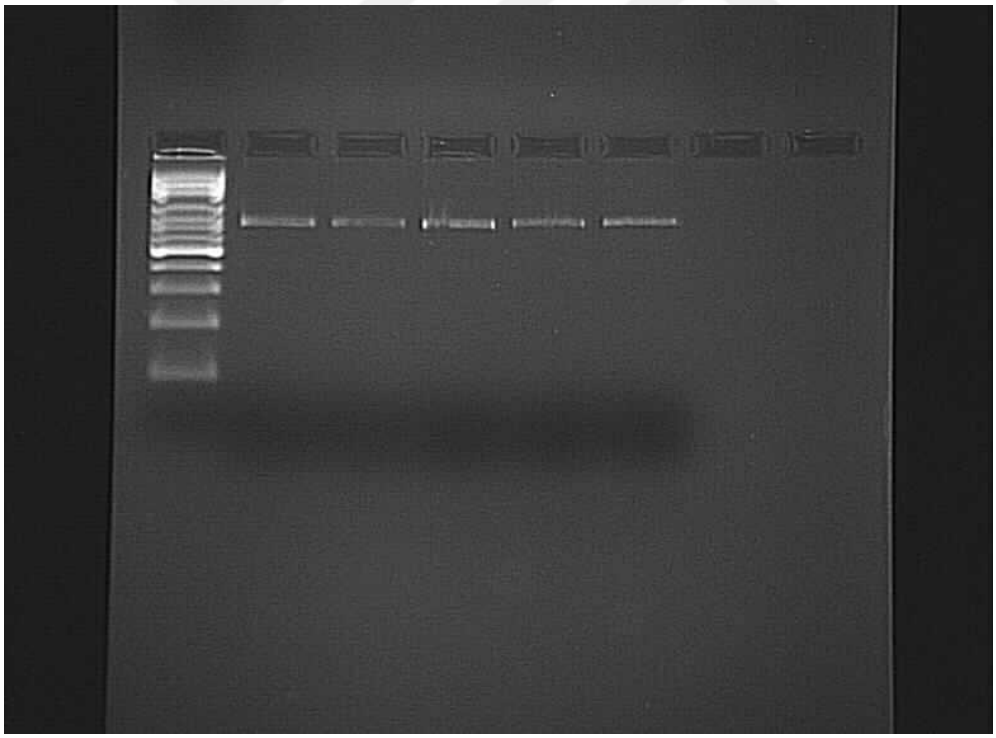
3.2.6. PZR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Dizileme

Promega firmasının ürettiği PZR pürifikasyon kitine (Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System) ait çalışma protokolü adım adım aşağıda açıklanmaktadır.

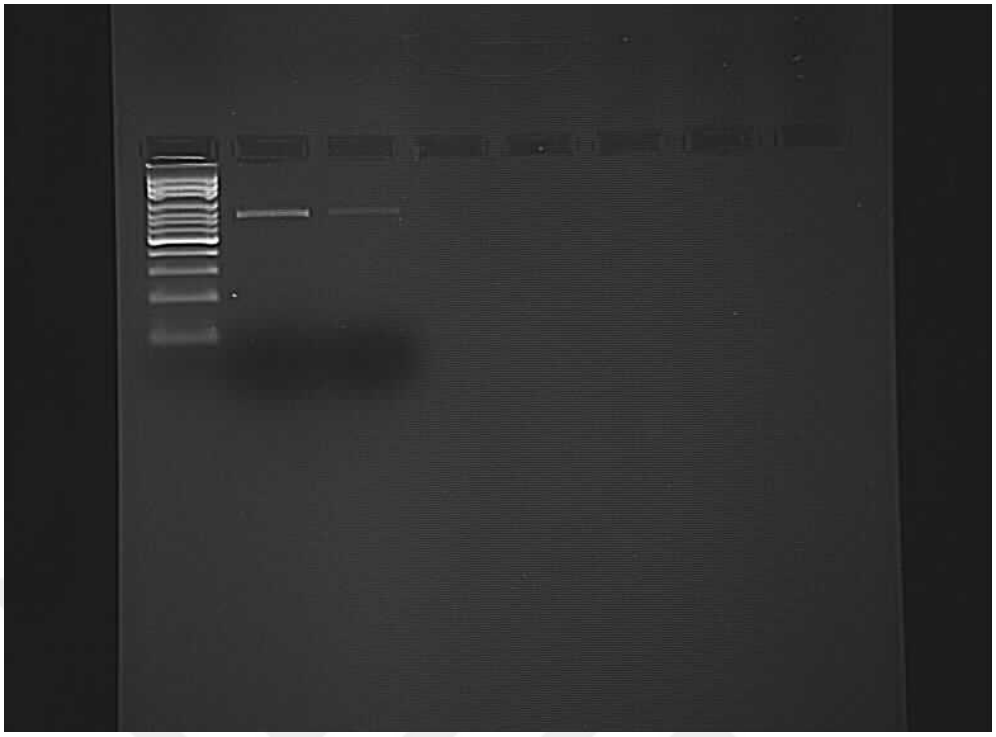
1. Jelden alınan bantların ağırlıkları ölçülür. Üzerlerine 1:1 oranında (ağırlık: hacim) "membran binding "solüsyonundan eklenir ve 65 °C de eritilir.
2. Kolonlar temiz tüpe takılır ve üzerlerine örnekler yüklenir.1 dk. beklenir. 14000 RPM'de, oda sıcaklığında, 1 dk. santrifüj yapılır. Alt solusyonları dökülür.

3. Kolonlara 700µl “membran wash” solüsyonu eklenir. 14000 RPM’de, oda sıcaklığında, 1 dak. santrifüj yapılır. Alt solusyonları dökülür.
4. “Membran Wash” solüsyonundan 500µl eklenerek 3. işlem tekrarlanır.14000 RPM’de 5 dak. santrifüj yapılır.
5. Kolonlar temiz tüplere takılıp, 25µl “Nuclease Free” (DNAaz veRNAaz’sız su) membrana değmeden tam ortasına bırakılır.1 dk. bekletilir.14000 RPM’de, oda sıcaklığında, 1 dk santrifüj yapılır.
6. Kolonlar atılıp, tüplerin kapakları kapatılır ve +4°C’de saklanır. DNA’ nın miktar ve saflığı kontrol edilir.

Bu çalışmada PZR ürünlerinin saflaştırılması, PZR programı modifikasyonuna ihtiyaç duyulan 5 takson için Promega prüfikasyon kiti kullanılarak çalışılmış olup diğer taksonlar için saflaştırma ve tüm taksonlar için dizileme işlemi hizmet alımı yapılarak tamamlanmıştır.



Şekil 3.4.a Yükleme sırasıyla CH184, CH202, CH12, CH25, CH205 kodlu örneklerin PZR pürifikasyonu sonrası elektroforez jel görüntüsü



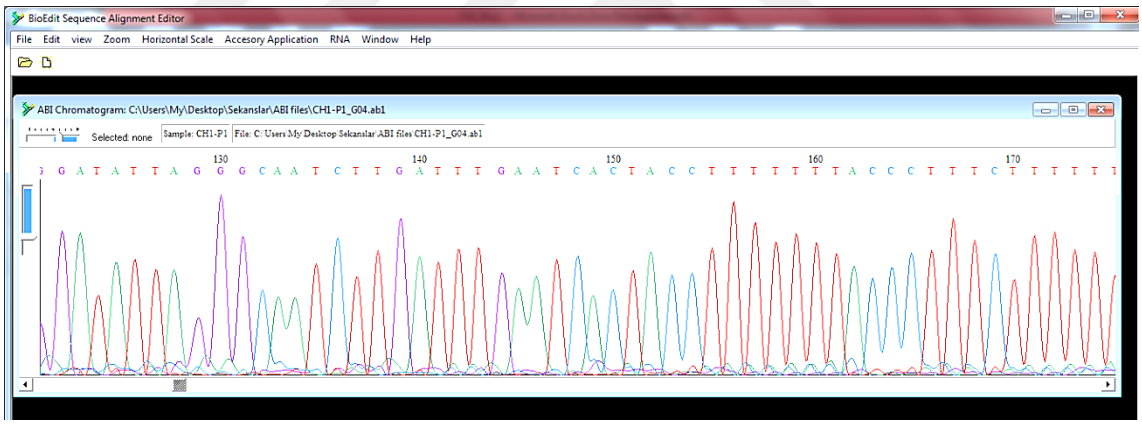
Şekil 3.4. b Yükleme sırasıyla CH28, CH39 kodlu örneklerin PZR pürifikasyonu sonrası elektroforez jel görüntüsü

Çizelge 3.2 PZR pürifikasyonu sonrası ilgili örneklerin tür adı, çalışma kodu ve spektrofotometrik ölçümleri

Takson Adı	Çalışma Kodu	ng/µl	260/280	260/230
Salsola anatolica	CH184	40,0	1,87	0,34
Salsola stenoptera	CH202	30,0	1,93	0,46
Salsola tamamschjanae	CH12	30,0	1,80	0,69
Salsola inermis	CH25	30,0	1,79	0,64
	CH205	32,0	1,92	0,62
Salsola soda	CH28	22,0	1,68	1,00
	CH39	18,0	1,56	0,29

3.2.7. Dizi eşleştirmesi ve Consensus Dizilerin Eldesi

ABI dosya formatındaki DNA dizi okumaları Bio.Edit yazılımı kullanılarak kontrol edilmiş ve çift okumalar birlikte değerlendirilerek contiq (birleştirilmiş) dosyalar -manuel ve program tabanlı olarak- oluşturulmuş ve kıyaslanmıştır. Program tabanlı işlem, BioEdit yazılımında Accesory Application, CAP Contig Assembly Program seçeneğinden kayıtlı ayarlarla (20 minumum base overlape ve 85 percent match) çalışılmıştır. Doğruluğu teyit edilmiş DNA dizileri (her taksonu temsilen bir dizi olacak şekilde) aynı dosya içinde konumlandırılarak hizalama (alignment) işlemi yine BioEdit yazılımında manuel olarak yapılmıştır. Hizalama işlemi sırasında kullanılmak üzere, NCBI veri tabanından *Salsola* taksonlarında çalışılmış *psbB-psbH* kloroplast genler arası bölgesi DNA dizileri fasta dosya formatında indirilmiş ve özgün veriyle birleştirilmiştir. Çalışmaya NCBI veri tabanından dahil edilen DNA dizilerinin detaylı bilgisi Ek 2'de sunulmaktadır.



Şekil 3.5 BioEdit programında DNA dizilerinin tek yönlü okuma görüntüsü



Şekil 3.6 DNA dizilerinin hizalanması işlemini gösteren görüntü

3.2.8. Parsimony, Maximum Likelihood ve Bayesian Analizleri

Parsimoni analizi, her biri gerçekleri açıklayabilen iki veya daha fazla sayıdaki hipotezden en basitinin kabul edilmesi gerekliliği prensibiyle çalışmaktadır. Buna göre, bir takson grubu için tüm muhtemel klodogramlar evreninden en az karakter durumu değişimine sahip olan bir tanesi veya daha fazlası (Çünkü aynı sayıda karakter durumu değişimine sahip farklı topolojileri yansıtan klodogramların varlığı olasıdır.) filogeniyi en iyi tahmin eden klodogram olarak kabul edilmektedir (Salemi 2009, Simpson 2012). Uygulamada eşit oranda en iyi parsimonili çok sayıda kladogram, konsensus (uyum) agacı denilen ortak özelliklerin bir araya toplandığı ağaçla temsil edilmektedir. Bu sayede en parsimonili ağaçların tek tek incelenmesi ve tartışılması sorunu çözümlendirilmektedir. Konsensus ağaçlarının birkaç tipi bulunmaktadır. Yaygın kullanılanlardan birisi, kladogramlar arasındaki dallanma modelinde politomiye giden farklılıkları azaltan mutlak konsensus ağacıdır. Bir diğer konsensus ağacı tipi ise sadece %50 ve daha yüksek güvenilirlikleri içeren kladların toplandığı %50 çoğunluklu konsensus ağacıdır (Salemi 2009, Simpson 2012).

Parsimoni prensibi ispatlanmamış hipotezlerin sayısını en aza indirerek en olası kabulü sağladığı için geçerli bir hipotezdir. Geçerliliği sağlayan bu koşul aynı zamanda kabul klodogramındaki homoplastik revarsellerin veya konvergenslerin sayısını da en aza indirmekted

Bu çalışmada Maksimum Parsimoni analizi MEGA 7.0 programında, Tree Bisection and Reconnection (TBR) algoritması höristik tarama (heuristic search) 10 rastgele sekans kopyası ekleme (random-addition sequence replicates) metodu ile çalışılmıştır. Kaldogramdaki dallara ait güvenirlik değerleri 1000 tekrarlı bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Bir diğer fiogenetik çıkarım yöntemi ise maksimum olasılık (maksimum likelihood) yöntemidir. Parsimonide olduğu gibi maksimum olasılık yönteminde de alternatif ağaçlar değerlendirilmektedir ancak; bu yöntem her bir ağacın bir bilgiyi açıkladığı seçilmiş evrim modeline dayanan olasılığı göz önünde bulundurarak çalışmaktadır. Bilgiyi açıklamada en yüksek olasılığa sahip klodogram daha düşük olasılığa sahip olanlara tercih edilmektedir. Kullanılan uygun evrim modeli, genellikle geçerli analizdeki bilgiyi temel almakla birlikte diğer veri gruplarına da dayalı olabilmektedir. Yaklaşım moleküler ve morfolojik veriler için uygun olsa da uygulamada genellikle moleküler verilerle çalışılmaktadır. DNA dizilerinden oluşan veri setinde, hizalama (alignment) işleminden sonra bilgi verici (informatif) karakterler bilgisayar yazılımları kullanılarak ya da manuel olarak tespit edilmektedir. Analizde informatif karakterlerin sayısı ve her bir nükleotid değişimi için olasılık skoru birlikte değerlendirilerek olasılık hesaplamaları yapılmaktadır (Salemi 2009, Simpson 2012).

Maksimum olasılık yöntemi bir nükleotidden diğerine değişim olasılığını belirlemek için model denklemleri kullanmaktadır. Bu modeller ve algoritmalar karmaşıktır ancak birbirlerine dönüştürülebilmektedir.

Diğer spesifik modellerin temeli olan ve yaygın kullanılan modellerden biri (GTR: Generalised Time-Reversible) GTZ: genel tersinir-zaman modelidir. GTZ modeli her bir nükleotid yer değişim tipi ve bazların frekansları için π_A , π_C, π_G, π_T ; ani yer değişim oranı ve parametre nisbi oranlarının (a,b,..,f) ortalamasının bir ürünü olan parametre oranlarından etkilenen yer değişim ihtimallerine dayanır (Simpson 2012).

Çizelge 3.3 Nükleotid yer değişim matriksi

	A	C	G	T
A	$-\mu(a\pi_C+b\pi_G+c\pi_T)$	$\mu a\pi_C$	$\mu b\pi_G$	$\mu c\pi_T$
C	$\mu a\pi_A$	$-\mu(a\pi_A+d\pi_G+e\pi_T)$	$\mu d\pi_G$	$\mu e\pi_T$
G	$\mu b\pi_A$	$\mu d\pi_C$	$-\mu(b\pi_A+d\pi_C+f\pi_T)$	$\mu f\pi_T$
T	$\mu c\pi_A$	$\mu e\pi_C$	$\mu f\pi_G$	$-\mu(c\pi_A+d\pi_C+e\pi_G)$

GTZ modelinden, paremetre frekansları eşit kabul edilerek ($\pi_A = \pi_C = \pi_G = \pi_T = 0.25$) ve tüm yer değişimlerin eşit oranlarda olduğu kabul ederek (a=b=c=d=e=f=1) Jukes-Cantor (JC) modeli elde edilmektedir.

Çizelge 3.4 JC kabullü nükleotid yer değişim matriksi

	A	C	G	T
A	-3/4μ	1/4μ	1/4μ	1/4μ
C	1/4μ	-3/4μ	1/4μ	1/4μ
G	1/4μ	1/4μ	-3/4μ	1/4μ
T	1/4μ	1/4μ	1/4μ	-3/4μ

Parametre frekansları eşit ve yer değişimler farklı oranlarda ise, başka bir değişle transisyon oranları eşit ama transversyon oranları farklı ise, Kimura'nın iki parametreli modeli (K2P) elde edilmektedir.

Çizelge 3.5 K2P kabüllü nükleotid yer değişim matriksi

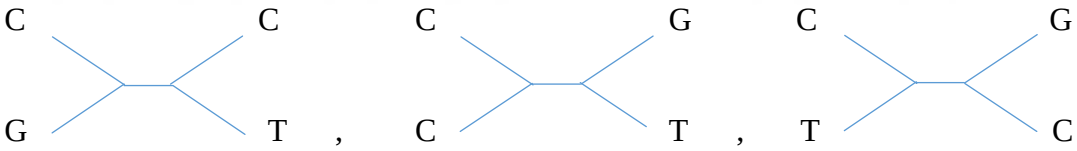
	A	C	G	T
A	-1/4μ(K+2)	1/4μ	1/4μk	1/4μ
C	1/4μ	-1/4μ(K+2)	1/4μ	1/4μk
G	1/4μk	1/4μ	-1/4μ(K+2)	1/4μ
T	1/4μ	1/4μk	1/4μ	-1/4μ(K+2)

Nükleotid yer değişim matriksi için uygun model bilgisayar yazılımlarınca hesaplanabilmektedir ya da veri setinin var olan modellere uygunlukları test edilip içlerinden en uygun olanı çalışmak için tercih edebilmektedir. Bu çalışmada veri seti

için en uygun model, MEGA 7 yazılımında araç çubuğundaki Models- Find Best DNA /Protein Model (ML) seçeneği kullanılarak GTZ Gamma dağılımı olarak bulunmuştur. İnformatif karakter sayısı ve baz yer değişim matriksi belirlendikten sonra taksonların olası tüm topolojilerini gösteren köksüz ağaçlar üzerinden olasılık skorları hesaplanmaktadır.

Örneğin, 4 takson ve 3 informatif karakterin bulunduğu bir veri setiyle çalışıldığı varsayıldığında aşağıdaki matriks elde edilmektedir. 4 takson için muhtemel 3 köksüz ağaç çizilebilmektedir ve olası ağaçlar aşağıda 1. karakter için görselleştirilmiştir.

	İnformatif karakterlere ait DNA dizi bilgisi		
Taksonlar	K1	K2	K3
T1	C	G	T
T2	G	G	T
T3	C	A	C
T4	T	A	C

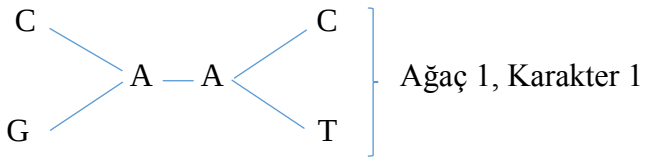


Ağaç 1 Ağaç 2 Ağaç 3

Nükleotid yer değişim matriksinin uygun modelle hesaplanmış halinin aşağıdaki gibi olduğu varsayılarak,

	A	C	G	T
A	0.6	0.1	0.2	0.1
C	0.1	0.6	0.1	0.2
G	0.2	0.1	0.6	0.1
T	0.1	0.2	0.1	0.6

ağaç 1 için; iki iç nodun baz değişim ihtimalini gösteren 16 topoloji, bazların eşit sıklıkta bulunduğu ve her birinin %25 olduğu varsayımına göre aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır.



Olasılık 1 (P1) = (0.25) · (0.1) · (0.2) · (0.6) · (0.1) · (0.1) = 0.00003

Olasılık 1 (P1) durumunda içteki iki nodun sıraylaA, A bazları olduğu olasılık temsil edilmektedir. Diğer olası baz değişim durumlarıhesaplanmış olasılık skorları ile birlikte sırasıyla şöyledir: P2=0.00006, A-C; P3=0.00001, A-G; P4=0.00006, A-T; P5=0.00108, C-C; P6=0.000015, C-A; P7=0.000015, C-G; P8=0.00036, C-T; P9=0.00009, G-G; P10=0.00003, G-A; P11=0.00018, G-C; P12=0.00018, G-T; P13=0.00036, T-T; P14=0.000005, T-A; P15=0.00012, T-C; P16=0.000005, T-G. Birinci ağaç birinci karaktere ait olasılık skoru ($L_{1,1}$), tüm bireysel olasılıkların toplanmasıyla (P1+P2+P3+..+P16) = 0.0026 olarak hesaplanmaktadır.

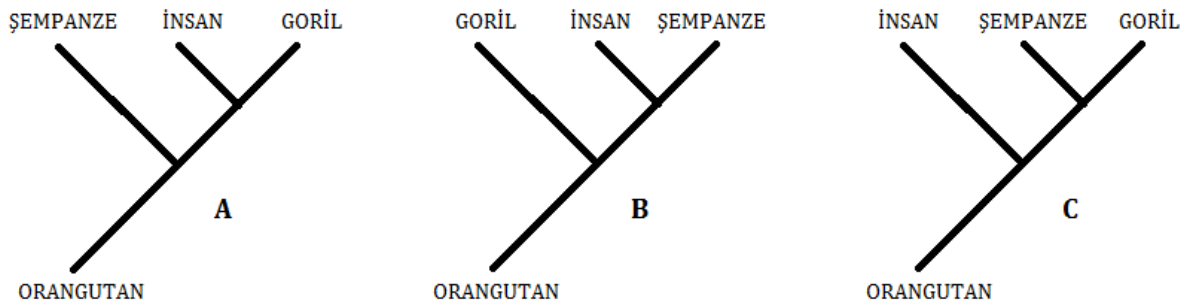
Aynı işlem ağaç 1, karakter2 ve ağaç 1, karakter 3 durumları için uygulandığında $L_{1,2}$= 0.01132 ve $L_{1,3}$= 0.01132 olasılıkları hesaplanmaktadır. Bu ağaç topolojisinin toplam olasılığı ($L_{1,T}$) üç karakterin her birinin olasılık skorlarının çarpımı ile $L_{1,T=}$ 0.0026× 0.01132 × 0.01132 = 3.332 × 10^{-7} veya L için elde edilen değerlerin küçüklüğünden dolayı - $LnL_{1,T}$ = - (Ln 0.0026 + Ln 0.01132 + Ln 0.01132) = 14.915 olarak hesaplanmaktadır.

Yukarıda açıklanan işlemler sırasıyla olası 2. ve 3. ağaç topolojileri için de hesaplandığında ($L_{1,T} > L_{2,T}$ &$L_{3,T}$), muhtemel üç köksüz ağacın en yüksek olasılığa sahip topolojisi ağaç 1 [(T1,T2) (T3,T4)] olarak belirlenmiş olup diğer ikisinin yerine kabul edilebileceği sonucu çıkmaktadır (Simpson 2012).

Bu çalışmada Maksimum Likelihood analizi; MEGA 7.0 programında GTZ+G modeli 4. gamma kategorisi, Subtree-Pruning-Regrafting- Extensive (SPR level 5) höristik tarama (heuristic search) metodu ve Branch Swap Filter None ve Default- NJ/BioNJ opsiyonları ile çalışılmıştır. Kaldogramdaki dallara ait güvenirlik değerleri 1000 tekrarlı bootstrap yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Filogeni analizlerinin daha güncel bir başka metodu ise Bayes çıkarımıdır. Bu metot T. Bayes tarafından 1763 yılında ileri sürülen olasılık formülünden yararlanılarak geliştirilmiştir. Metot bir olayın meydana gelme olasılığını, ilgili olay için önsel bilgilerin varlığıyla değerlendirir. Bu işlem önsel olasılık dağılımları adı verilen ve kendi içerisinde uniform, exponential, gamma, beta ya da Dirichlet dağılımları olmak üzere çeşitlilik gösteren fonksiyonlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Eğer ilgili olay için önsel bir bilgi bilinmemekteyse, olası tüm durumların eşit kabul edildiği üniform olasılık dağılımı kullanılarak o olay için önsel olasılık skoru hesaplanmaktadır. Sonrasında önsel bilgiler değerlendirilerek sonsal olasılık skoruna ulaşılır. Sonsal olasılık fonksiyonu Bayes teoremi ya da Bayes kuralı olarak bilinmektedir (Huelsenbeck 2001, Salemi 2009).

Daha anlaşılır olması açısından; insan, goril ve şempanze taksonlarının akrabalık ilişkisini araştıran bir örnek düşünelim. Standart bir klodagramda bu üç takson için bir kök bulunmalıdır; örneğimizde bu kök orangutan taksonuyla temsil edilecektir. Bu varsayımlar altında ilgili taksonların akrabalık ilişkisini yansıtan olası 3 ağaç topolojisi metnin devamında görselleştirilmiştir. (Salemi 2009).

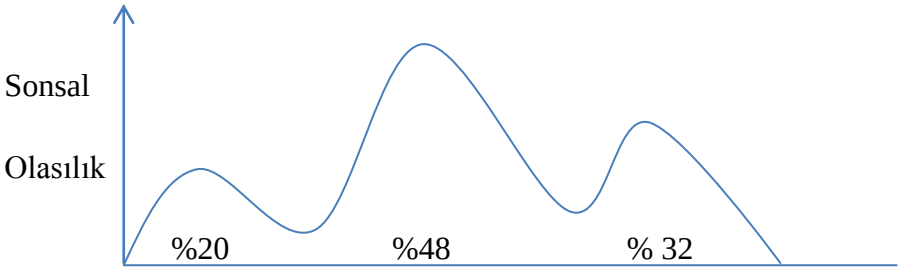


A, B, C topolojilerine ait önsel olasılık bilgimizin olmadığı varsayımıyla devam ederek,

hizalanmış DNA dizilerine X, model parametresi vektörüne Θ; topoloji parametresine τ , dal uzunluğu parametresine υ simgeleri atandığında ve nükleotid yer değişim matriksi modeli için Jukes Cantor (JC) seçildiği varsayımıyla, $\Theta = (\tau, \upsilon)$, sonsal olasılık fonksiyonu ——— denklemiyle gösterilmektedir. Önsel olasılık dağılımı fonksiyonunun integrali alınarak, mutlak olasılık durumu skoru ya da normalleştirme sabiti adı verilen değerin eldesi

denklemiyle hesaplanmaktadır (Huelsenbeck 2001, Salemi 2009). Önsel olasılık dağılımları, olası topoloji ve dal uzunluğu parametreleri kombinasyonları için tek tek yukarıdaki denklem kullanılarak hesaplanmaktadır. Sonrasında bir matrikste ilgili satır ve sutunların birlikte değerlendirilmesiyle sonsal olasılık skorları ve marjinal olasılık skorları elde edilmektedir. (Salemi 2009).

Seçtiğimiz model, filogenetik modeller içerisinde en basiti olmasına rağmen 1 boyutta bile (örneğin sadece dal uzunluğu parametresi için) kesin olarak parametre uzayını sergilemek imkansızdır ancak teorinin mantığını anlamak açısından mümkün olduğunu hayal ederek devam edersek bu örnek için aşağıdaki grafik x ekseninde üç farklı ağaç topolojisine karşılık gelen üç belirgin bölgeyi ayırmaktadır.



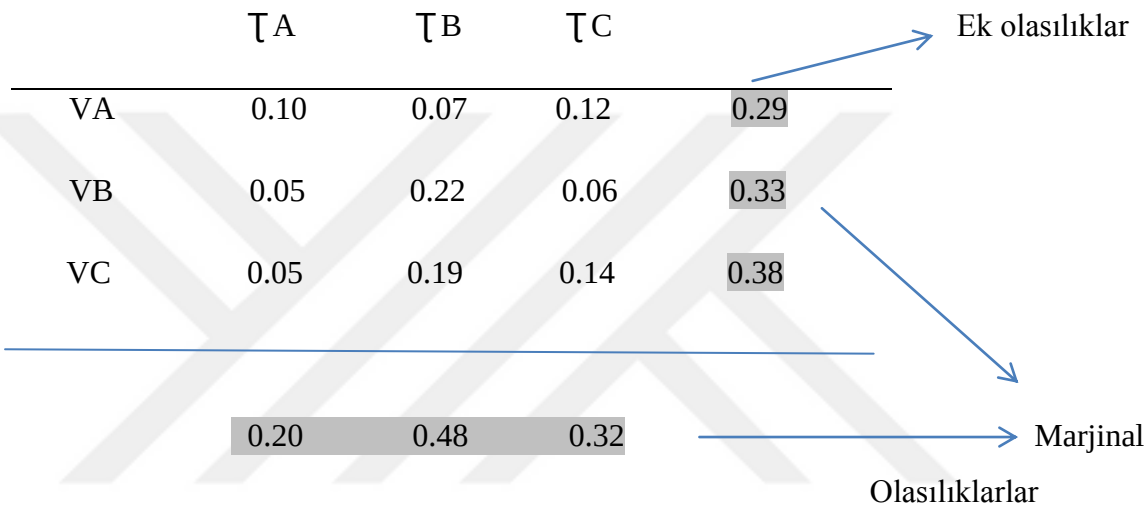
Topoloji A Topoloji B Topoloji C

Her bölgenin içinde farklı dal uzunlukları değerlerini temsil eden noktalar bulunmaktadır. Böylece tek boyutlu parametre aksisi bize sonsal olasılık fonksiyonunu resmetmektedir (Salemi 2009).

Parametre uzayımızı iki boyutlu olarak, bir boyut dal uzunluğu (υ) ve diğer boyut topolojiyi (τ) temsil edecek şekilde, genişlettiğimizi varsayarsak; bu örnek topoloji için 3 farklı kombinasyona sahiptir fakat dal uzunluğu için sonsuz sayıda değerden bahsedebiliriz. Varsayımsal olarak sadece en uzun ve en kısa dal uzunlukları

değerlendirildiğinde bile; tüm dal uzunlukları, terminal dal uzunlukları ve iç dal kısalığı gibi çeşitli skorlar hesaplanmalıdır (Salemi 2009).

Aşağıdaki tabloda her hücre, belirli bir topoloji ve belirli bir dal uzunluğu için sonsal olasılık değerlerini temsil etmektedir. Bunlar ek olasılık değerleri olarak adlandırılmaktadır. Tüm ek olasılık değerleri tek bir satırda özetlendiğinde ise ilgili parametreler için marjinal olasılık değerleri elde edilmiş olmaktadır.



Matriksteki dal uzunluğu marjinal olasılık değerleri, yukarıdaki grafikte olası 3 topoloji için sonsal olasılık yüzdeleri olarak ifade edilmiştir. 2 boyutlu koordinat düzlemi tek bir aksise sahip olduğundan tek bir parametre için sonsal olasılık görselleştirilebilmiştir. Benzer bir grafik topoloji parametresi için de matriksten ilgili marjinal olasılık değerleri alınarak çizilebilinir.

Yukarıda açıklandığı gibi takson sayısı az olsa bile parametre uzayının sonsuz sayıda olabilmesi sebebiyle, Bayesian çıkarımı bu sorunu çözmek için Markov Chain Monte Carlo örneklemini (MCMC) kullanmaktadır. Temel fikir, geçerli parametre değerlerinde küçük rastgele değişimler yapıp, bu değişimleri uygun olasılıklara göre kabul ya da reddederek örneklem sınırlarının çizilmesini sağlamaktır (Salemi 2009).

MCMC örneklemi adım adım aşağıdaki şekilde çalışmaktadır:

1. Dağılım içerisinden rastgele bir θ değeriyle zincir başlatılır.

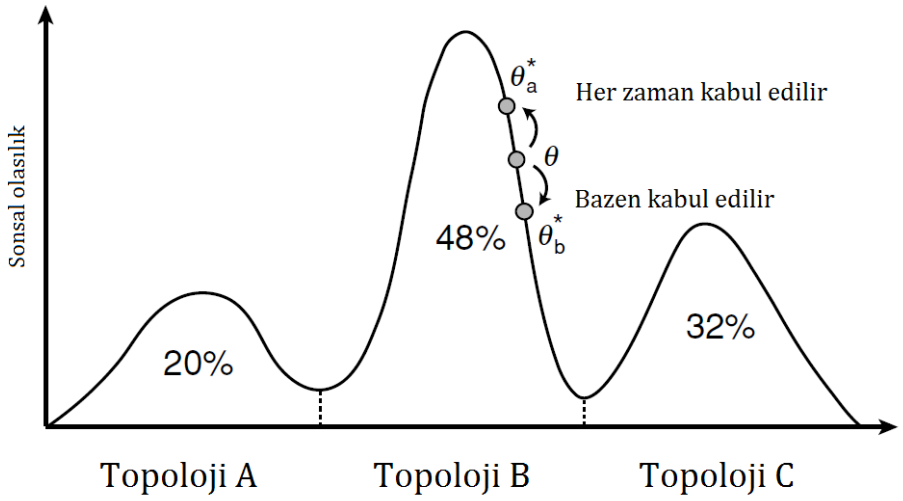
2. Sonrasında zincirin yeni jenerasyonunda önerilen dağılımdan $f(\Theta^*|\Theta)$, yeni hesaplanan Θ^* değeri seçilir ve iki değer için sonsal olasılık oranı hesaplanır.

3. Sonraki adım için iki ihtimal söz konusudur;

   (a) yeni değer yükseliyorsa, yani r >1 ise, her zaman bir sonraki zincir için başlangıç noktası olarak bu değer kabul edilir.

   (b) yeni değer düşüyorsa, yani r <1 ise, r olasılığı ile yeni değer kabul edilir ya da eski değere dönülerek yeni değer reddedilir.

4. 2. Adıma dönülerek yeni bir zincir için işlemler tekrarlanır.



Uygulamada nispeten daha karmaşıktır çünkü önerilen dağılımdaki asimetrileri doğru şekilde hesaplamak gerekmektedir. Usulen, önerilen değerler aşağıda denklemleri verilen olasılıksal hesaplamalara göre kabul veya reddedilmektedir (Huelsenbeck 2001, Salemi 2009).

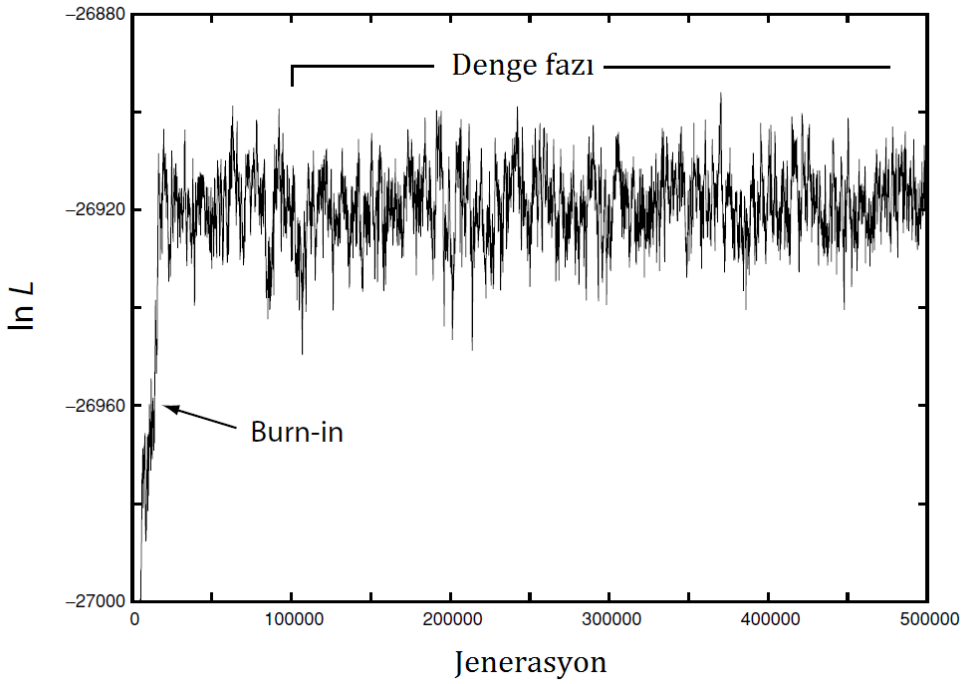
——— ——— önsel oran

——————— ——— Likelihood oranı

—— —— —— Hasting oranı/ önerilen oran

İlk iki oran denklemi Bayes teoremi ile ilişkilidir ancak onun kadar karmaşık integral hesaplamalarına ihtiyaç duymamaktadır. Denklemler incelendiğinde görülecektir ki; *f* (X) ikinci adımda sadeleştirilmektedir çünkü geçerli ve önerilen değerlerin ikisi için de aynıdır. Bu sayede rdeğerini hesaplamak kolaylaşmıştır. Ayrıca son denklem yani Hasting oranı, sonsal olasılık oranıyla aynıdır. Bunun anlamı, Markov zinciri yeterli sayıda jenerasyon için çalıştırıldığında, ilgili parametrenin sonsal olasılığının gerçekleşme zamanı için de bilgilendirici olmaktadır. Örnek olarak, topolojinin sonsal olasılık değeri 0.68 ise örneklem zamanının %68'i topolojinin dengeye ulaşması için geçen süreyi vermektedir (Salemi 2009).

Uygulamada zincir jenerasyon döngüsünün erken fazları marjinal değerlerden daha yüksek oranlarda etkilendikleri için, (burn-in) yakma adı verilen işlemle analizden çıkartılmaktadır. Yaklaşık olarak jenerasyon sayısının %10'u yakıldığında sonsal olasılık değerleri denge fazı adı verilen evreye ulaşır. Bu sayede analizin güvenilirliği sağlanmaktadır (Salemi 2009).



Şekil 3.7 Bayes analizinde yakma işlemi (burn-in) için gerekli jenerasyon sayısı ve denge fazı grafiği

Bu çalışmada Bayesian metodu Mr. Bayes_V.3.2 sürümüyle, GTZ+G modeli kullanılarak, her 1000 jenerasyonda bir örnekleme yapılacak şekilde, 4 eş zamanlı Markov Chain Monte Carlo (MCMC) örneklemi kullanılarak, 15.000.000 jenerasyonda çalışılmıştır. Her zincir için hesaplanan olasılık değerleri Tracer v1.6 programı kullanılarak kontrol edilmiştir ve örneklenen ağaçların %10 yakılarak (burn-in) dışarda bırakılmıştır. Dahil edilen ağaçlar 50% çoğunluklu konsensus ağacı şeklinde özetlenmiştir ve ağaç üzerinde nodlara ait sonsal olasılık değerleri belirtilmiştir. Bayes ağacı FigTree v1.4.3 programıyla görselleştirilmiştir.

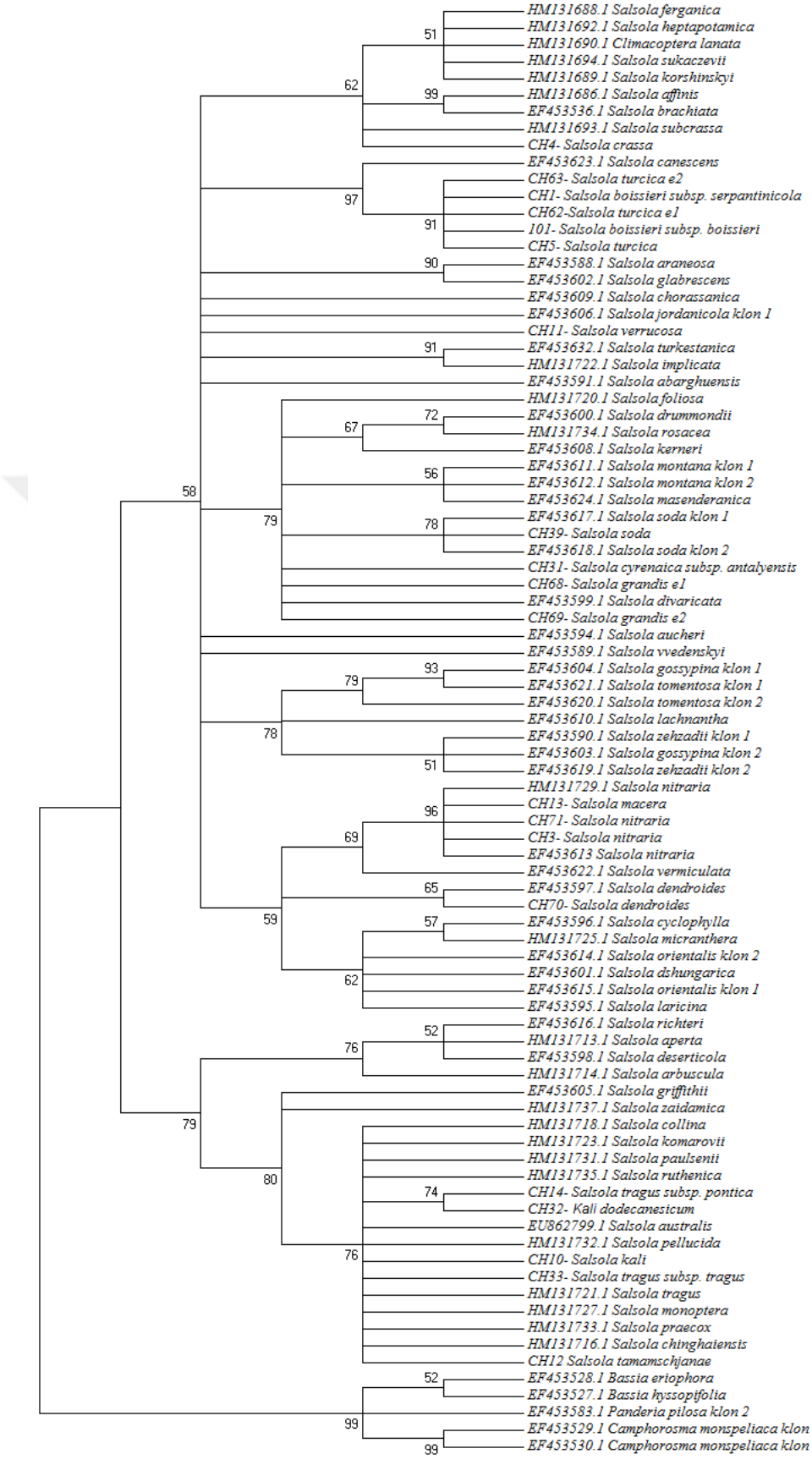
4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

Bu çalışmada 70 *Salsola* türüne ait ve beş dış grup olmak üzere, bazı *Salsola* türlerinin ekotipleri ve alt türleri de dahil edilerek toplam 86 *psbB-psbH* genler arası bölgesi DNA dizisi Maksimum Parsimoni, Maksimum Likelihood ve Bayesian filogeni analizleri için kullanılmıştır. Analizde kullanılan 86 DNA dizisinden 20'si çalışma kapsamında Türkiye'den toplanıp izole edilen taksonlara ait olup, kalan 66 dizi NCBI veri tabanından sağlanmıştır. Çalışmaya veri tabanından dahil edilen dizilerin ortalama baz çifti uzunluğu 603 olup, özgün dizilerin baz uzunluğunun ortalama değeri 622 baz çiftidir. Align işlemi görmüş veri seti 647 karekter içermekte olup, varyasyon gösteren karakter sayısı 158 ve bilgilendirici karakter sayısı 82 olarak saptanmıştır. Bu tez çalışmasında dış grup olarak *Bassia eriophora, Bassia hyssoptfolia, Panderia pilosa, Camphorosma monspeliaca* taksonları kullanılmıştır.

Salsola stenoptera, Salsola anatolica ve *Salsola inermis* taksonlarına ait hizalanmış dizilerde yaklaşık 200 baz çiftlik ortak delesyon tespit edilmiştir ve bu üç taksona ait DNA dizilerinde P2 sekansları düşük güvenilirlikler ile okunabilmiştir. *psbN-psbH* bölgelerinde bu üç taksona spesifik ortak bir mutasyon geçmişi olduğu tahmin edilmektedir. Taksonların morfolojik benzerlikleri de bu hipotezi desteklemektedir. Bahsedilen sebeplerle bu üç taksona ait DNA dizileri kümülatif veride sapma yaratmaması için filogeni analizlerine dahil edilmemiştir.

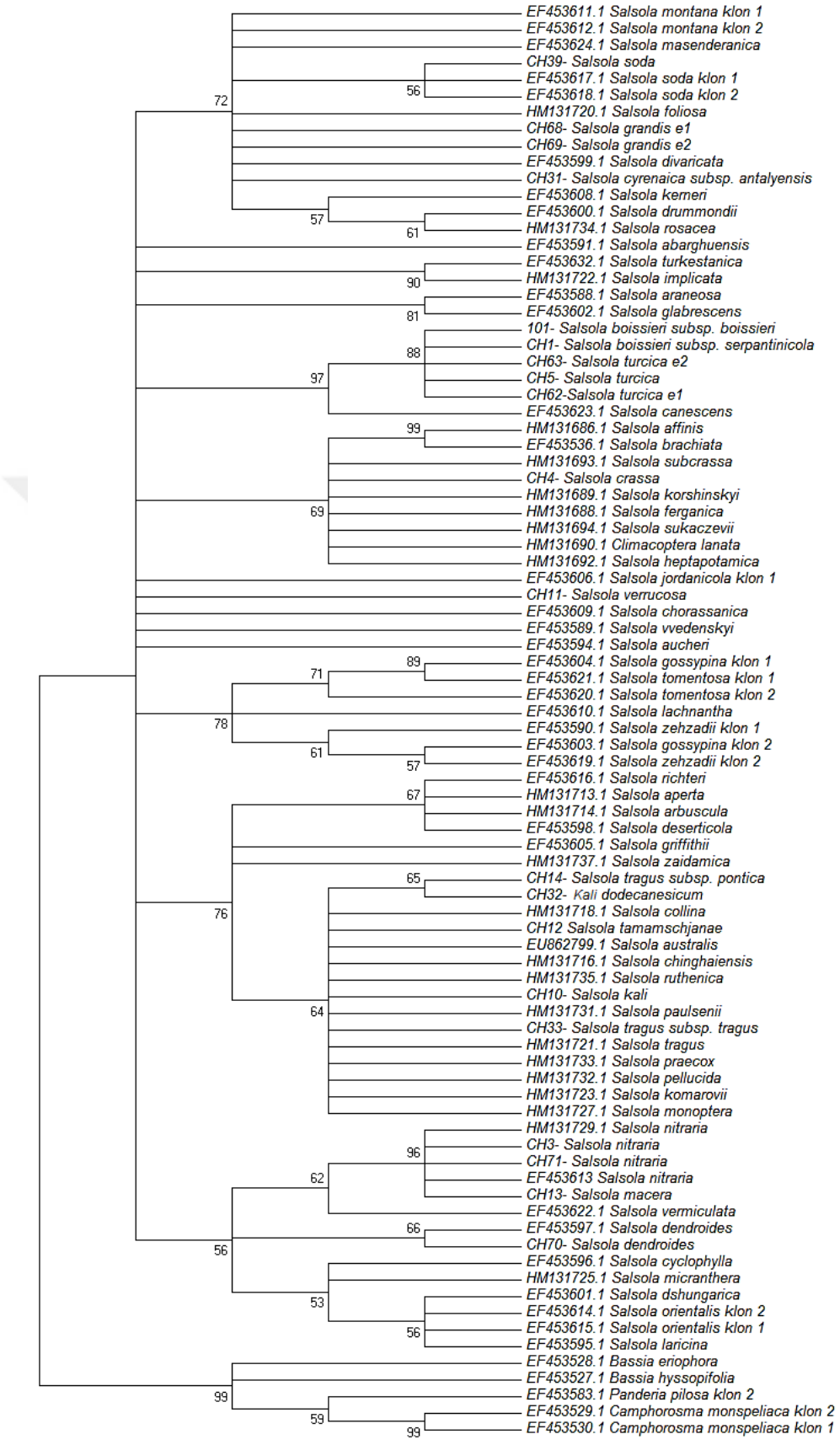
50% çoğunluklu bootstrap konsensus maksimum parsimoni ağacı aşağıda gösterilmektedir. Maksimum parsimoni ağacında genel olarak Akhani 2007 çalışmasına uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. *Salsola, Oreosalsola* ve *Canarosalsola* grupları bir arada politomik olarak gruplanmıştır. Bu üç gruba ait dış dal bootstrap değeri 79 olarak okunmaktadır. *Kali* grubu bir arada politomik olarak konumlanmıştır ve *Xylosalsola* ve *Turania* gruplarıyla yakın konumdadır. *Xylosalsola* ve *Turania* taksonları kendi içerisinde politomiktir ve dış dal bootstarp değeri 76 okunmaktadır. *Kali* grubu taksonları bir arada konumlanmıştır ve dış dalın bootstrap değeri 80 olarak okunmaktadır. Ancak *Salsola tragus* subsp. *pontica* ve *Kali dodecanesicum* (bootstrap değeri 74) harici *Kali* grubu taksonları politomiktir. *Kali, Xylosalsola* ve *Turania* gruplarının dış dal bootstrap değeri 79 olarak okunmaktadır. *Kavira* grubu taksonları 78

bootstrap değeri ile bir arada konumlanmaktadır. *Caroxylon* grubu kladogramda dağınık halde konumlanmıştır ve politomi göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda DNA dizileri çalışılmamış taksonlardan: *S.turcica* ekotipleri ve *S.boissieri* subsp. *serpantinicola* taksonları, *S. boissieri* subsp. *boissieri* ile birlikte 91 bootstrap dış dal değeriyle politomik olarak konumlanmıştır. *Salsola crassa* ve *Salsola verrucosa* taksonları politomik dallarda güvenilir olmayan bootstrap değerleriyle konumlanmıştır. *Salsola grandis* ekotipleri ve *S. cyrenaica* subsp. *antalyensis* taksonları; *Salsola, Oreosalsola* ve *Canarosalsola* gruplarının içerisinde politomik dallar olarak konumlanmıştır.



Şekil 4.1 50% çoğunluklu bootstrap konsensus maksimum parsimoni ağacı

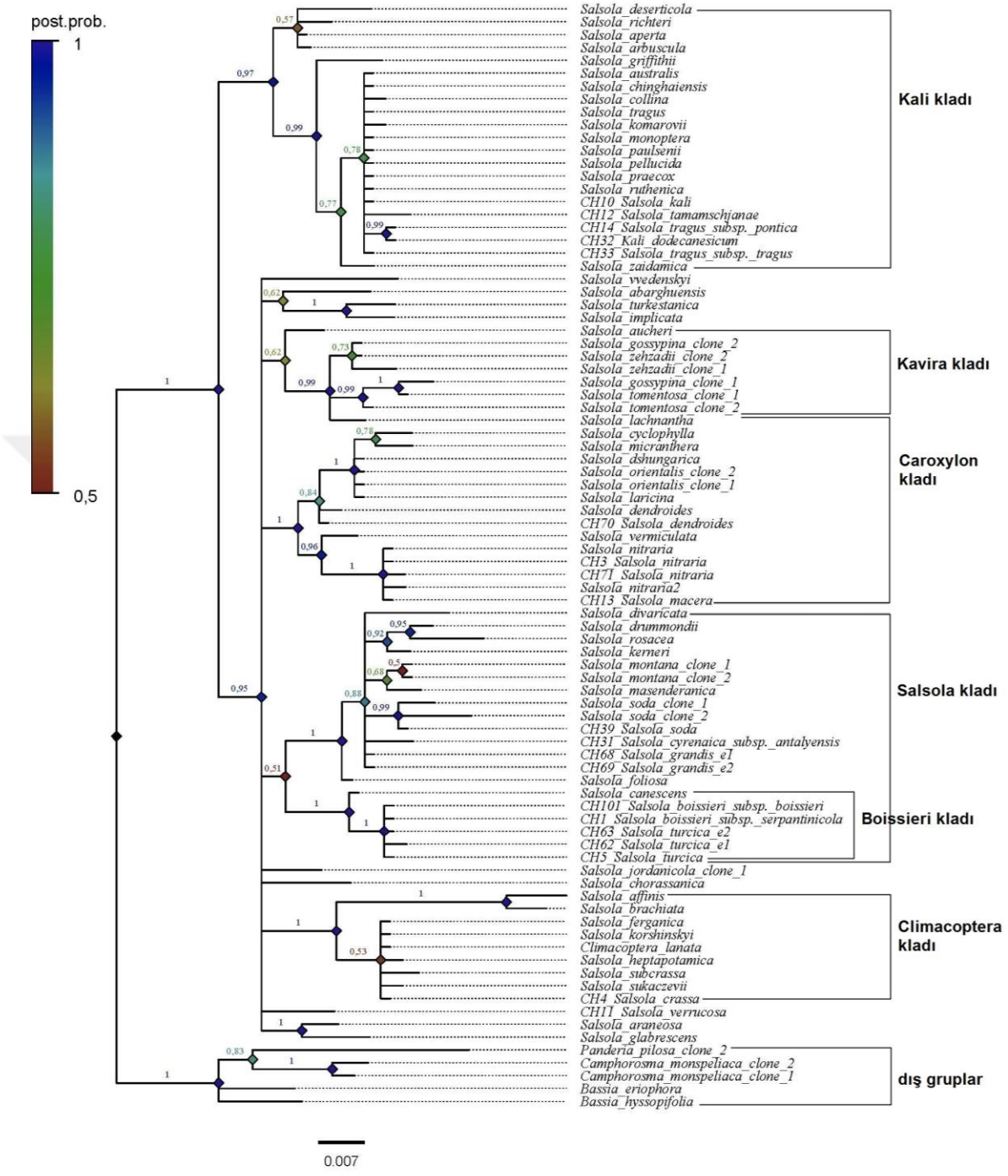
50% çoğunluklu bootstrap konsensus maksimum likelihood ağacı aşağıda gösterilmektedir. Analizde en yüksek log likelihood değerine sahip topoloji, %50 çoğunluklu bootstrap konsensus topolojisiyle birebir eşleşmektedir ve LnL =- 2557,73 olarak hesaplanmıştır. Maksimum likelihood topolojisi, parsimoni topolojisine benzerdir. Genel olarak palitomi oranı yüksek ancak klad konumları anlamlı ağaçlara ulaşılmıştır. *Kali* kladı 76, *Kali* grubu 64 bootstrap değerlerine sahip politomik nodlarla görselleştirilmiştir. Kavira grubu topolojisi kısmen monofiletiktir ve dış dal 78 bootstrap değerine sahiptir. *Caroxylon* grubu görece daha az politomik olup, 56 bootstrap dış dal değeriyle temsil edilmiştir. *Climacoptera* grubu dış dal bootstrap değeri 69 olup, topolojisi oldukça politomiktir. *Salsola, Oreosalsola* ve *Canarosalsola* grupları bir arada politomik olarak gruplanmıştır ve dış dal bootstrap değeri 72'dir. Daha önceki çalışmalarda DNA dizileri çalışılmamış taksonlardan: *S.turcica* ekotipleri ve *S.boissieri* subsp. *serpantinicola* taksonları, *S. boissieri* subsp. *boissieri* ve *Salsola canesccens* ile birlikte 97 bootstrap dış dal değeriyle politomik olarak konumlanmıştır. *Salsola grandis* ekotipleri ve *S. cyrenaica* subsp. *antalyensis* taksonları; *Salsola, Oreosalsola* ve *Canarosalsola* gruplarının içerisinde politomik dallar olarak konumlanmıştır. *Salsola verrucosa* politomik dallarda güvenilir olmayan bootstrap değerleriyle konumlanmıştır. *Salsola crassa* taksonu ise *Climacoptera* kladı içerisinde politomik olarak konumlanmaktadır. Maksimum likelihood ağacı topolojisi Zhi-Bin Wen 2010 çalışmasıyla uyumludur.



Şekil 4.2 50% çoğunluklu bootstrap konsensus maksimum likelihood ağacı

50% çoğunluklu konsensus Bayesian ağacı aşağıda gösterilmektedir. Ağaca ait LnL=-2647,45 olarak hesaplanmıştır. Topolojide dış gruplar 1 sonsal olasılık (pp) nod değeri ile monofiletik olarak ayrılmıştır. İç grup nodları 1 pp ile ve kendi içerisinde sırasıyla *Kali* kladı için 0.97 pp ve diğer klad topluluğu için 0.95 pp değeri ile oldukça güvenilir şekilde gruplanmıştır. *Kali* kladı içerisinde, *Kali* grubu 0.99 pp değeri ile gruplanmaktadır. *Kali* grubu içerisinde *S. griffithii* harici taksonlar bir arada 0.77 pp ile ve bu iç grup içerisinde *S.zaidamica* harici taksonlar 0.78 pp değeri ile gruplanmaktadır ve politomi içerirler. Topolojide *Climacoptera* ve *Caroxylon* kladları ve *S. araneosa* ve *S. glabrescens* taksonlarını temsil eden nodlar 1 pp değeri ile, *Kavira* ve *S. abarghuensis, S. turkestanica, S. implicata* taksonlarını temsil eden nodlar 0.62 ile, *Salsola* kladını içeren takson grubu nodu ise 0.51 pp değeri ile temsil edilmektedir. *S. verruucosa, S. chorassanica, S. jordanica* klon 1, *S. vvedenskyi* taksonları 0.50'den daha küçük- güvenilir olmayan- pp değerleri ile topolojide politomik konumlanmaktadır. Topolojide *Kavira* kladı kendi içlerinde monofiletik kabul edilebilmekle birlikte, *Climacoptera* ve *Caroxylon* grupları taksonomik açıdan daha karmaşıktır. Bu çalışma ile *psbB-psbH* DNA dizileri literatüre eklenen taksonlardan; *S. turcica* ekotipleri, *S. boissieri* subsp. *serpantinicola*, S. *boissieri* subsp. *boissieri* birlikte iç nodda 1 pp değeri ve *Salsola canescens* dahil edildiğinde dış nodda 1 pp değeri ile gruplanmaktadır.

Çalışmada elde edilen her üç filogeni yaklaşımı için de topolojiler benzer bulunmuştur ancak; içlerinde en bilgilendirici ve güvenilir sonuç Bayes ağacından elde edilmiştir.



Şekil 4.3 50% çoğunluklu konsensus Bayesian ağacı

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Salsola cinsi *Amaranthaceae* familyası içerisinde taksonomisi problemli gruplardan biridir. Bu çalışma, cinsin taksonomik problemlerinin çözümlenmesi için bir adım olarak planlanmıştır.

Çalışmada karşılaşılan en önemli problem kladogramların yüksek politomi içermesidir. Bu durumun öncelikli nedeni, tek moleküler belirteç ile çalışılması ve ilgili moleküler belirtecin cinsin taksonomik problemlerini çözmede yeterince bilgilendirici sonuçlar vermemesidir. Akhani vd. (2007) yaptıkları çalışmada *psbN-psbH* kloroplast bölgesi ile çekirdek ITS bölgesini kombine ederek çalışmışlar ve Caroxylon alt cinsinin monofletik olduğunu tespit etmişlerdir bizim çalışmamızda ise Caroxylon alt cinsine ait taksonlardan önemli bir kısmı monofletik olarak bir politomi oluşturmuşlar; fakat, *Salsola abarghuensis* Assadi ve *Salsola glabrescens* B. Davy gibi taksonların ayrı kladlarda bulundukları görülmüştür. Gerek bu durum, gerekse *S. anatolica*, *S. stenoptera* ve *S. inermis* de görülen yaklaşık 200 baz çiftlik mutasyon *Salsola* cinsi evrimsel tarihinde kloroplast capture meydana gelmiş olmasının kuvvetle muhtemel olduğunu göstermektedir.

Her üç ağaç da incelendiğinde, Kali kladı dışındaki kladların iç gruplarda yüksek olasılıklarla yakınlık gösterdikleri ve kladların birbirleri ile olan ilişkilerinde politomi oluşturdukları gözlenmektedir. *Salsola nitraria* ve *Salsola macera* taksonları Caroxylon kladı içerisinde 1 pp ile gruplanmıştır, bu konum *Salsola macera*'nın *Salsola nitraria*'nın sinonimi olarak kabul edilmesini desteklemektedir. Benzer olarak Boissieri kladında, *Salsola canescens* de *Solsola boissieri* subsp. *boissieri'nin* sinonimidir ve bu kladda bulunan *S.turcica* da morfolojik olarak *Solsola boissieri türüne çok benzerdir.* Kali kladı içerisinde 0,99 pp ile konumlanan *Salsola tragus* subsp. *pontica* ile *Kali dodecanesica* türleri birbirlerine morfolojik olarak çok benzeyen taksonlardır hatta Mosyakin (2017) , bu iki taksonu *Salsola squarrosa* Steven ex Moq. in DC. subsp. *squarrosa* **(=** *Kali dodecanesica*) ve *Salsola squarrosa* subsp. *pontica* (Pall.) Mosyakin **(=** *Salsolatragus subsp. pontica*) adları ile aynı türün alt türleri olarak değerlendirmiştir, bu sebeple ağaç üzerindeki gruplanmaları anlamlı olarak değerlendirilmektedir. Ek olarak bu çalışma kapsamında özgün olarak sekanslanan *Salsola kali*, *Salsola*

tamamschjanae, Salsola tragus subsp. *tragus* taksonlarının da Kali kladı içerisinde gruplanması literatür öngörüsü ile paralellik göstermektedir. *Salsola cyrenaica* subsp. *antalyensis* bayes kladogramında analiz sonucuna göre Salsola kladında konumlanmaktadır, morfolojik özellikleri dikkate alındığında şüpheli yaklaşılan *Darniella* seksiyonuna ait taksonun maalesef ne bu çalışma kapsamında ne de NCBI veri tabanında kıyaslanabilir başka bir DNA dizi verisi bulunmamaktadır. Bu çalışma *Darniella* seksiyonundan bir taksonun dahil edildiği ilk filogenetik çalışmadır ve sonuç olarak bu seksiyonu temsil eden *Salsola cyrenaica* subsp. *antalyensis* taksonunun *Salsola* secsiyonu içinde konumlanmış olması *Darniella* seksiyonunun ayrı bir cins olarak kabul eden Brullo'nun (1984) çalışmasını desteklememektedir.

Arazi çalışmalarında tespit edilerek toplanmış ve uygun yöntemle kurutulmuş bazı taksonlardan ilgili bölgeye ait DNA dizileri elde edilememiştir. Çalışma sürecinde bu sorunla *Salsola incanacens* taksonu için DNA özütünün eldesi aşamasında, *Salsola inermis, Salsola anatolica* ve *Salsola stenoptera* taksonları için dizileme aşamasında karşılaşılmıştır. Problem yaşanan türler için süreç kontrollü denemelerle tekrarlanmış ve aynı sonuçlarla karşılaşılmıştır. Bu noktada problem yaşanan taksonlardan *Salsola inermis, Salsola anatolica* ve *Salsola stenoptera* türlerinin yakın türler olması dizilemeye engel oluşturabilecek paylaşılan bir mutasyonun varlığını düşündürmektedir. *Salsola incanacens* türünün DNA izolasyonunda yaşanan problemin çözümüne yönelik olarak canlı örnek üzerinden çalışılması önerilmektedir. Bu tez kapsamında türün lokasyonu sebebiyle canlı örneğe erişim imkanı maalesef bulunamamıştır. Yukarıdakilere ek olarak ülkemizde Ağrı ilinde yetiştiği bilinen *Salsola ericoides* türü proje süresi içerisinde arazi çalışmaları sırasında toplanamamıştır.

Veri bankalarında *Salsola* cinsi taksonlarına ait farklı moleküler belirteçlerle çalışılmış nükleotid dizileri bulunmaktadır ancak; *psbB-psbH* genler arası bölgelerinin çalışıldığı taksonlar ile diğer moleküler belirteçler kullanılarak sekanslanan dizilerin birlikte kullanımı için eşleşen tür sayısının sınırlı olması sebebiyle bu tez çalışmasının kapsamı genişletilememiştir.

Yüksek politominin çözülmesine öneri olarak çekirdek moleküler belirteçlerinin de kullanımı ve hem çekirdek hem de kloroplasttan sağlanacak moleküler belirteç sayısının

arttırılarak yeni bir çalışma planlanmasıdır. Az sayıdaki moleküler belirteçler taksonun filogenetik ilişkisini açıklamada yetersiz kalmaktadır.

Belirteç sayısının arttırılmasına bir alternatif olarak, taksonomik çalışmada yeni nesil dizileme teknikleri kullanımı önerilmektedir. Bu teknikle bir bireye ait tüm genom dizilemesi mümkündür. Tüm genom kütüphanelerinin birey ve populasyon düzeyinde eldesi, cinsin taksonomik problemlerinin çözümü için optimal öneri olarak sunulmaktadır.

KAYNAKLAR

Aellen, P. 1967. New Chenopodiaceae from Turkey.

Akhani, H., Gerald, E., and Eric H.R. 2007. Diversification of the old world Salsoleae sl (Chenopodiaceae): molecular phylogenetic analysis of nuclear and chloroplast data sets and a revised classification. International Journal of Plant Sciences 168, no. 6; 931-956.

Anonim 2019, Web sitesi http://www.theplantlist.org/, Erişim tarihi 01.06.2019

Botschantzev, V. P. 1969. The genus Salsola L.(composition, history of development and distribution). Summary of report on published papers presented instead of doctor degree thesis.

Brullo, C., Brullo, S., Ilardi, V., and Del Galdo, G. G. 2015. Kali dodecanesicum (Chenopodiaceae, Salsoloideae) a new species from Greece. Phytotaxa 218, no. 1; 61-68.

Brullo, S., 1984. Taxonomic consideration on the genus «Darniella» (Chenopodiaceae). *Webbia*, *38*(1), pp.301-328.

Cates, S. 2006. NCBI: National Center for Biotechnology Information.

Davis, P. H. 1966. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol.2. pp. 581. Edinburgh University Press. Edinburg, 328-334.

Davis, P. H., Mill, R. R. and Kit Tan. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1), Vol. 10. Edinburgh University Press, Edinburgh, 94.

Dong, W., Xu, C., Li, D., Jin, X., Li, R., Lu, Q., & Suo, Z. 2016. Comparative analysis of the complete chloroplast genome sequences in psammophytic Haloxylon species (Amaranthaceae). *PeerJ*, *4*, e2699.

Freitag, H., and Özhatay, E. 1997. A new subspecies of Salsola canescens (Chenopodiaceae) from SW Anatolia, Turkey. *Willdenowia*, *27*(1/2), 185-191.

Freitag, H., and Duman, H. 2000. An unexpected new taxon of Salsola (Chenopodiaceae) from Turkey. *Edinburgh Journal of Botany*, *57*(3), 339-348.

Güner A., Özhatay N., Ekim T. ve Başer KHC. (eds.) 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 2), Vol. 11. Edinburgh: Edinburgh University Press, 62-64.

Hall, T. 1999. BioEdit ver. 7.0. 9.0. Carlsbad, California: Ibis Biosciences.

Huelsenbeck, J. P., and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, *17*(8), 754-755.

Kadereit, G., Borsch, T., Weising, K., and Freitag, H. 2003. Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *International journal of plant sciences*, *164*(6), 959-986.

Kadereit, G., Mucina, L., and Freitag, H. 2006. Phylogeny of Salicornioideae (Chenopodiaceae): diversification, biogeography, and evolutionary trends in leaf and flower morphology. *Taxon*, *55*(3), 617-642.

Kadereit, G., and Freitag, H. 2011. Molecular phylogeny of Camphorosmeae (Camphorosmoideae, Chenopodiaceae): Implications for biogeography, evolution of C4-photosynthesis and taxonomy. *Taxon*, *60*(1), 51-78.

Kadereit, G., Ackerly, D., and Pirie, M. D. 2012. A broader model for C4 photosynthesis evolution in plants inferred from the goosefoot family (Chenopodiaceae ss). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *279*(1741), 3304-3311.

Kapralov, M. V., Akhani, H., Voznesenskaya, E. V., Edwards, G., Franceschi, V., and Roalson, E. H. 2006. Phylogenetic relationships in the Salicornioideae/Suaedoideae/Salsoloideae sl (Chenopodiaceae) clade and a clarification of the phylogenetic position of Bienertia and Alexandra using multiple DNA sequence datasets. *Systematic botany*, *31*(3), 571-585.

Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, *33*(7), 1870-1874.

Mosyakin, S. L. 2017. Taxonomic and nomenclatural notes on Pontic-Mediterranean coastal and some Australasian taxa of Salsola (Chenopodiaceae). *Ukrayins'k Bot Zhurn, ns*, *74*, 521-531.

Müller, K., & Borsch, T. 2005. Phylogenetics of Amaranthaceae based on matK/trnK sequence data: evidence from parsimony, likelihood, and Bayesian analyses. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 66-102.

Pratt, D. B. 2003. Phylogeny and morphological evolution of the Chenopodiaceae-Amaranthaceae alliance.

Pyankov, V. I., Artyusheva, E. G., Edwards, G. E., Black Jr, C. C., and Soltis, P. S. 2001. Phylogenetic analysis of tribe Salsoleae (Chenopodiaceae) based on ribosomal ITS sequences: implications for the evolution of photosynthesis types. *American Journal of Botany*, *88*(7), 1189-1198.

Rambaut, A., Suchard M.A., Xie D., and Drummond A. J. 2015. Tracer v1. 6. 2014.

Rambaut, A. 2016. Figtree. 2012.

Reece, J.B., Urry L.A., Cain M.L., Wasserman S.A., Minorsky P.V., and Jackson R. 2014. Campbell biology 10th Edition, Boston: Pearson, 415.

Rilke, S. 1999. Revision der Sektion Salsola SL der Gattung-Salsola (Chenopodiaceae).

Ronquist, F., J. P. Huelsenbeck, and P. Van Der Mark 2008. MrBayes v. 3.2 (Bayesian Analysis of Phylogeny).San Diego, CA: Florida State University and University of California.

Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., ... & Small, R. L. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American journal of botany*, *92*(1), 142-166.

Sage, R. F. 2001. Environmental and evolutionary preconditions for the origin and diversification of the C4 photosynthetic syndrome. Plant Biology 3, no. 03: 202-213.

Salemi, M., Lemey P., and Vandamme A.M. 2009. The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing, 2nd Edition, Cambridge University Press. 3,68-99;7,210-236;8,267-288.

Schütze, P., Freitag, H., & Weising, K. 2003. An integrated molecular and morphological study of the subfamily Suaedoideae Ulbr.(Chenopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, *239*(3-4), 257-286.

Shepherd, K. A., Macfarlane, T. D., & Colmer, T. D. 2005. Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Annals of Botany*, *95*(6), 917-933.

Simpson, M.G., 2012. Çeviri Editörü: Zeki Aytaç, Çeviri Editör Yardımcısı: Bahar Kaptaner İğci. Bitki Sistematiği, İkinci Basımdan Çeviri (Plant Systematics,), Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Sti, Yayın Nu: 448. *Fen Bilimleri Nu 40*, 2,17-52; 8,295-302; 14,586-601.

Sorger, F. 2000. Pflanzen einiger Salzsteppen der Türkei im Bild. Stapfia, 27-130.

Yaprak, A.E. 2012. Salsola, In: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (edlr.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları, 28-29 s., İstanbul.

Walker, T. 2006. Plant Diversity and Evolution. Genotypic and Phenotypic Variation in Higher Plants. Edited by RJ Henry. Wallingford UK: CABI Publishing (2005), pp. 332. Experimental Agriculture, 42(1), 121-121.

Wen, Z. B., Zhang, M. L., Zhu, G. L., and Sanderson, S. C. 2010. Phylogeny of Salsoleae sl (Chenopodiaceae) based on DNA sequence data from ITS, psbB–psbH, and rbcL, with emphasis on taxa of northwestern China. *Plant Systematics and Evolution*, *288*(1-2), 25-42.

Xu, D. H., Abe, J., Sakai, M., Kanazawa, A., and Shimamoto, Y. 2000. Sequence variation of non-coding regions of chloroplast DNA of soybean and related wild species and its implications for the evolution of different chloroplast haplotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, *101*(5-6), 724-732.

EKLER

EK 1: Çalışmada kullanılan tüm bitki materyalinin; tür adı, örnek numarası, lokasyonu ve DNA ekstrasyonu için materyalin hazırlanma koşulu bilgileri

Tür Adı	Örnek Numarası	Lokalite	DNA Ekstrasyonu için materyalin hazırlanma koşulu
Salsola boissieri Botsch. subsp. *serpantinicola* (Freitag & Özhatay) Freitag & Uotila	A.E. Yaprak 2011-650	Muğla, Köyceğiz, Sanras dağı, Serçe gediği kuzeyi, Pinus nigra açıklıkları serpantin alanlar, 1650 m, 02.10.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola nitraria Pall.	A.E.Yaprak 2011-259	Aksaray, Ulukışla kasabası, Tuz Gölü yakınları, 918 m, 29.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola nitraria Pall.	A.E.Yaprak 2011-581	Aksaray, Yenikent köyü, Aksaray-Konya karayolu bağlantı yolu üzer, tuzlu step, 925 m, 20.09.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola nitraria Pall.	Başköse-2924	Ankara, Şereflikoçhisar, Akın köyü güneyi, Tuz Gölü kenarı, 913 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola crassa M. Bieb.	A.E.Yaprak 2011-284	Aksaray, Eskil, Eski Eskil-Yenikent yolu üzeri, tuzlu alanlar, 906 m, 29.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola crassa M. Bieb.	İ.B. Çınar-1107	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü Alkim Tesisi çevresi, kanal yamaçları, tuzcul alkali alanlar, 943 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

Salsola laricina Pall.	A.E.Yaprak 2011-321	Konya, Çumra, Çatalhöyük, batı Çatalhöyük kazı alanı içi, 1012 m, 30.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola turcica Yıld.	A.E.Yaprak 2011-199	Eskişehir, Sivrihisar, Günyüzü, İlyaspaşa-Yenidoğan köyleri arası, yol kenarı jipsli yamaçlar, 806 m, 26.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola turcica Yıld.	İ.B. Çınar-1105	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü Alkim Tesisi çevresi, kanal yamaçları, tuzcul alkali alanlar, 943 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola turcica Yıld.	Başköse-2942a	Eskişehir, Sivrihisar, Günyüzü, İlyaspaşa-Yenidoğan köyleri arası, yol kenarı jipsli yamaçlar, 806 m, 26.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola turcica Yıld.	İ.B. Çınar-1088 (11.08.15) CH63	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin Köyü' nün güneyi, Tuz Gölü' nün çevresi, 917 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola kali L.	A.E.Yaprak 2011-269	Aksaray, Ulukışla-Yenikent arası, Yenikent girişi, tuzlu step, 935 m, 29.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola kali L.	Başköse-2923	Ankara Şereflikoçhisar, Akın köyü güneyi, Tuz gölü kenarı, 913 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola verrucosa M. Bieb	A.E. Yaprak 2011-509	Iğdır, Tuzluca, Tuzluca-Kağızman yolu, Tuzluca'nın 5 km kuzeyi, Kırmızı-Kalkerli tuzlu tepelikler ve	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

		arklar	
Salsola tamamschjanae Iljin	A.E.Yaprak 2011-420	Doğubeyazıt-Iğdır yolu, Doğubeyazıt çıkısı sağ taraf yol kenarı, 1548 m, 04.08.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola macera Litv.	A.E.Yaprak 2011-428	Iğdır, Iğdır-Karakoyunlu yolu, Karakoyunlu'ya 4 km kala, volkanik, kayalık alanlar, 820 m, 05.08.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola macera Litv.	M. Çiçek 2012-73	Iğdır, Iğdır'dan Aralık'a 20. km, Babacan köyü yol ayrımı, çorak alanlar, 833 m, 18.09.2012	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola macera Litv.	Başköse-2429	Kayseri, Develi, Çayırözü-Dörtyol arası, Deri fabrikasının kuzeyi, tuzcul step, Artemisia kommunitesi içleri, 1080 m, 14.11.2013	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola tragus L. subsp. *pontica* (Pall.)Rilke	Başköse-2101	Ondokuzmayıs, Yörükler köyü, Kaymakamlık kampı mevkii, cumhuriyet sitesi sahili, kumul alanlar, 10.10.2012	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola tragus L. *subsp. pontica* (Pall.)Rilke	Başköse-3020	Trabzon, Of, Of'a 2 km kala, Eskipazar çıkışı, Baltacı deresinin denize döküldüğü sahil, 22.10.2012	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola cyrenaica (Maire&Weiller) Brullo subsp. *antalyensis*	A.E.Yaprak 2011-656	Antalya, Finike'den Demre'ye giderken (Çıkış tabelasından) 10. km, Merkezden 13 km, kalkerli	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

Freitag & H.Duman		kayalık yamaçlar, 10-20 m, 03.10.2011	
Salsola cyrenaica (Maire&Weiller) Brullosubsp. *antalyensis* Freitag & H.Duman	Başköse-2989	Antalya, Finike, Finike-Demre yolu 10. km, yolun alt kısmı kalkerli kayalıklar, 20 m, 11.09.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Kali dodecanesicum (C.Brullo, Brullo, Giusso, Ilardi) Yaprak	Tuğ-1891	Fethiye, Kocaçalış plajı, Türbe çevresi ve kanal kenarları, kumul alanlar, 5 m, 18.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola tragus L. subsp. *tragus*	A.E.Yaprak 2012-2813	C3, Mersin Silifke Hurma Köyü yakınları Paradeniz Kuzeyi, 1m, UTM-0589741-4018450	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola tragus L. *subsp. tragus*	Tuğ-1892	Fethiye, Kocaçalış plajı, Türbe çevresi ve kanal kenarları, kumul alanlar, 5 m, 18.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	A.E.Yaprak 2011-237	Ankara, Ankara-Şereflikoçhisar yolu üzeri, çorak alanlar, 910 m, 28.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	A.E.Yaprak 2011-258	Aksaray, Ulukışla kasabası, Tuz Gölü yakınları, 918 m, 29.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	A.E.Yaprak 2015-168	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, Kasım 2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-070	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-081	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-191	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu-alkali alanlar, 941 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-192	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-193	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-194	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola anatolica Aellen.	GLZ 2015-195	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola soda L.	Başköse-2702	Edirne, Enez, Sultaniça sahili, kumul alanlar, 2 m, 11.09.2014	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

Salsola soda L.	Başköse-3018	Hatay, Samandağ, güney sahili, ruderal alanlar, 3 m, 14.09.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	A.E.Yaprak 2011-218	Ankara, Nallıhan, Davutoğlan Kuş Cenneti, jipsli-Marnlı-tuzlu alanlar, 481 m, 26.07.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	A.E.Yaprak 2015-152	Kırıkkale, Delice, Kırıkkale-Çorum karayolu, Delice'ye 2-3 km kala, karayolu kenarı tepelik yamaçlar, 657 m. Kasım 2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	Başköse-2109	Kırıkkale, Delice, Kırıkkale-Çorum karayolu, Delice'ye 2-3 km kala, karayolu kenarı tepelik yamaçlar, 657 m, 11.10.2012	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	A.E.Yaprak 2015-149	Ankara, Nallıhan, Davutoğlan Kuş Cenneti, jipsli-Marnlı-tuzlu alanlar, 481 m, Kasım 2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	Başköse-2882	Ankara, Nallıhan, Davutoğlan Kuş cenneti, Akçayır 4-5 girişi, jipsli-marnlı-tuzlu alanlar, 481 m, 03.11.2014	Tohumdan çimlendirildi.
Salsola grandis Freitag, Vural & Adıgüzel	A.E.Yaprak 2011-784	Ankara, Nallıhan, Davutoğlan Kuş Cenneti, jipsli-Marnlı-tuzlu alanlar, 481 m, 01.11.2011	Tohumdan çimlendirildi.
Salsola grandis Freitag, Vural &	M. Çiçek 2012-45	Iğdır, Tuzluca, tuz mağaraları çevresi, tuzlu	Tohumdan çimlendirildi.

Adıgüzel		alanlar, 1075 m, 17.09.2012	
Salsola dendroides Pall.	Başköse-2151	Iğdır, Taşburun-Hasanhan arası, Babacan köyü yolu sapağı, çorak alanlar, 833 m, 17.11.2012	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola dendroides Pall.	M. Çiçek 2012-5	Sivas, Yıldızeli, Çırçır-Güneyyaka-Yusufoğlan köyü yolu, Yusufoğlan köyüne 3 km kala, Kale mevkii, 1350-1400 m, kayalık-taşlık yamaçlar	Tohumdan çimlendirildi.
Salsola boissieri Botsch. subsp. *boissieri*	A.E. Yaprak 2011-634	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası girişi, çorak-tuzlu step, 917 m, 21.09.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-111	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-112	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-113	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-114	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-115	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km.	Silikada kurutulmuş

		kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-171	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu-alkali alanlar, 941 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015 172	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-173	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-174	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	GLZ 2015-175	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü, Aklim tesisleri çevresi, kanal kenarları, tuzlu	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola inermis Forssk.	A.E.Yaprak 2011-669	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz gölü kıyısı, çorak alanlar, 917 m, 06.10.2011	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola incanascens C.A.Mey	Başköse-2635	Van, Muradiye-Van arası, Van'a 45 km kala, Canik tuzlası içi, tuzlu alanlar, 1749 m, 31.08.2014	Tohumdan çimlendirildi.
Salsola nitraria	M. Çiçek	Van, Muradiye-Van arası,	Silikada

Pall.	2012-95	Van'a 45 km kala, Canik tuzlası içi, tuzlu alanlar, 1749 m, 19.09.2012	kurutulmuş yaprak örneği
Salsola incanescens C.A. Mey	Başköse-2635	Van, Muradiye-Van arası, Van'a 45 km kala, Canik tuzlası içi, tuzlu alanlar, 1749 m	Silika örneği ve tohumdan çimlendirilerek çalışıldı.
Salsola inermis Forssk.	A.E. Yaprak 2011-586	Aksaray, Eskil, Eski Eskil-Yenikent yolu üzeri, 906 m, 20.09.2011	Herbaryum örneği.
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-060	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-061	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-062	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-063	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-064	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera	GLZ 2015-076	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz	Silikada kurutulmuş

Wagenitz		Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-077	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-078	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-079	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-080	Ankara, Şereflikoçhisar, Akin köyü güneyi, Tuz Gölü kenarları, 914 m, 11.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-091	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz Gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-092	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz Gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-093	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz Gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera	GLZ 2015-094	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km.	Silikada kurutulmuş

Wagenitz		kala, Tuz Gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-095	Konya, Cihanbeyli, Yavşan Tuzlası yolu, tuzlaya 1 km. kala, Tuz Gölü kıyısı, çorak alanlar, 913 m, 26.08.2015	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-147	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü kenarları, 942 m	Silikada kurutulmuş yaprak örneği
Salsola stenoptera Wagenitz	GLZ 2015-148	Konya, Cihanbeyli, Bolluk Gölü kenarları, 942 m	Silikada kurutulmuş yaprak örneği

Ek 2: NCBI veri tabanından alınan *Salsola* taksonları ve erişim kodları

	Tür Adı	**Yazarlar**	***psbB-psbH***
1	*Salsola paulsenii* Litv.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131731
2	*Salsola laricifolia* Litv. ex Drobow	Z. B. Wen; M. L. Zhang; H. H. Meng	KC310714
3	*Salsola junatovii* Botsch.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; H. H. Meng	KC310710
4	*Salsola arbusculiformis* Drobow	Z. B. Wen; M. L. Zhang; H. H. Meng	KC310709
5	*Salsola griffithii* (Bunge) Freitag & K.Khani	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453605
6	*Salsola zaidamica* Iljin	Z. B. Wen; M. L. Zhang; H. H. Meng	HM131737
7	*Salsola ruthenica* Iljin	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131735
8	*Salsola rosacea* L.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131734
9	*Salsola praecox* Litv.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131733
10	*Salsola micranthera* Botsch.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131725
11	*Salsola komarovii* Iljin.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131723
12	*Salsola foliosa* Schrad. ex Schult.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131720
13	*Salsola collina* Pall.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131718
14	*Salsola chinghaiensis* A.J. Li	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131716

15	*Salsola sukaczevii* (Botsch.) A.J.Li	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131694
16	*Salsola subcrassa* Popov	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131693
17	*Salsola heptapotamica* Iljin.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131692
18	*Salsola ferganica* Drobow	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131688
19	*Salsola affinis* C.A.Mey. ex Schrenk	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131686
20	*Salsola divaricata* Moq.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453599
21	*Salsola korshinskyi* Drobow	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131689
22	*Salsola masenderanica* Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453624
23	*Salsola montana* Litv.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453611
24	*Salsola kerneri* (Wol.) Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453608
25	*Salsola drummondii* Ulbr.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453600
26	*Salsola aucheri* (Moq.) Bunge ex Iljin	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453594
27	*Salsola monoptera* Bunge	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131727
28	*Salsola pellucida* Litv.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131732
29	*Salsola vermiculata* L.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453622

30	*Salsola orientalis* S.G. Gmel.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453615
31	*Salsola nitraria* Pall.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131729
32	*Salsola implicata* Botsch	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131722
33	*Salsola dshungarica* Iljin	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453601
34	*Salsola arbuscula* Pall.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131714
35	*Salsola tomentosa* (Moq.) *Spach*	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453621
36	*Salsola zehzadii* Akhani	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453619
37	*Salsola richteri* (Moq.) Karel ex Litv.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453616
38	*Salsola lachnantha* (Botsch.) Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453610
39	*Salsola chorassanica* Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453609
40	*Salsola jordanicola* Eig	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453606
41	*Salsola gossypina* Bunge ex Boiss.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453604
42	*Salsola glabrescens* Burtt Davy	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453602
43	*Salsola deserticola* Iljin	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453598

44	*Salsola cyclophylla* Baker	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453596
45	*Salsola laricina* Pall.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453595
46	*Salsola abarghuensis* Assadi	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453591
47	*Salsola vvedenskyi* Iljin & Popoy	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453589
48	*Salsola araneosa* Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453588
49	*Salsola turkestanica* Litv.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453632
50	*Salsola aperta* Paulsen	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131713
51	*Salsola soda* L.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453618
52	*Salsola tragus* L.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131721
53	*Salsola kali* L.	M. V. Kapralov; H. Akhani; E. V. Voznesenskaya; G. Edwards; V. Franceschi; E. H. Roalson	DQ499431
54	*Salsola dendroides* Pall.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453597
55	*Salsola canescens* (Moq.) Boiss. (= *Salsola boissieri* Botsch. subsp. boissieri)	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453623
56	*Climacoptera crassa* (M.Bieb.) Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453534
57	*Climacoptera brachiata* (Pall.) Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453536

58	*Climacoptera lanata* (Pall.) Botsch.	Z. B. Wen; M. L. Zhang; G. L. Zhu; S. C. Sanderson	HM131690
59	*Climacoptera glaberrima* Botsch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453532
60	*Panderia pilosa* Fisch. &C.A.Mey.klone 2	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453583
61	*Camphorosma monspeliaca* L. Pollich klone 1	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453530
62	*Camphorosma monspeliaca* L. Pollich klone 2	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453529
63	*Bassia eriophora* Asch.	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453528
64	*Bassia hyssopifolia* (Pall.) Kuntze	E. H. Roalson; H. Akhani; G. Edwards	EF453527

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Duru SANCAR

Doğum Yeri : Çankaya

Doğum Tarihi : 10.08.1991

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Ayrancı Anadolu Lisesi (2009)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2013)