

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ORDU VE GİRESUN İLLERİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN
***SICYOS* TÜRLERİNİN NÜKLEAR RİBOZOMAL DNA ITS**
POLİMORFİZMİ

BERNA NUR YEŞİLTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2018

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Berna Nur YEŞİLTAS tarafından hazırlanan ve Prof. Dr. Onur KOLÖREN danışmanlığında yürütülen “Ordu ve Giresun İllerinde Yayılış Gösteren *Sicyos* Türlerinin Nükleer Ribozomal DNA ITS Polimorfizmi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 06.09.2018 tarihinde oy birliği ile Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Onur KOLÖREN


Başkan : Prof. Dr.Hüsrev MENNAN
Bitki Koruma Anabilim Dalı,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

İmza: 

Üye : Prof. Dr. Onur KOLÖREN
Bitki Koruma Anabilim Dalı,
Ordu Üniversitesi

İmza: 

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Arzu SEZER
Bitki Koruma Anabilim Dalı,
Ordu Üniversitesi

İmza: 

ONAY:

,08./10./2018... tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 11./10/2018.. tarih ve 2018/481 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Enstitü Müdürü

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Berna Nur YEŞİLTAS

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

ÖZET

ORDU VE GİRESUN İLLERİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN *SICYOS* TÜRLERİNİN NÜKLEAR RİBOZOMAL DNA ITS POLİMORFİZMİ

Berna Nur YEŞİLTAŞ

Ordu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı, 2018

Yüksek Lisans Tezi, 40s.

Danışman: Prof. Dr. Onur KOLÖREN

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde geniş yayılma alanına sahip *Sicyos* spp. bahçelerde, boş alanlarda ve yol kenarlarında görülen önemli yabancı ot türlerinden biridir. Bitki sarılıcı ve tırmanıcı yapısı ile bulunduğu ortama kolayca adapte olan ve diğer bitkilerle rekabete girerek onları baskı altına alan istilacı bir türdür.

Bu çalışmada Ordu ve Giresun illerinin farklı noktalarından alınan otuz *Sicyos* spp.'nin populasyon örnekleri ribozomal DNA (rDNA) İnternal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgeleri kullanılarak moleküler filogenisi belirlenmiştir. Analizler Neighbour-Joining (NJ), Maximum-Parsimony (MP) ve Maximum-Likelihood (ML) algoritması kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, iki haplotip bulunmuştur. Haplotip-1 ve Haplotip-2'nin sırasıyla *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira ve *S. angulatus* L. ile % 100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Dokuz örnek ile Haplotip-1 arasında sırasıyla % 68 ve % 74 (NJ/MP) oranında filogenetik ilişki saptanmıştır. Altı örnek ile Haplotip-2 arasında ise sırasıyla % 69, % 80 ve % 70 (NJ/MP/ML) oranında benzerlik bulunmuştur. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira ülkemiz florası için yeni bir türdür.

Anahtar Kelimeler: *Sicyos* spp., ITS (İnternal Transcribed Spacer), Moleküler filogeni, İstilacı yabancı ot

ABSTRACT

NUCLEAR RIBOSOMAL DNA ITS POLYMORPHISM OF *SICYOS* SPECIES IN ORDU AND GİRESUN

Berna Nur YEŞİLTAŞ

University of Ordu

Institute for Graduate Studies in Science and Technology

Department of Plant Protection, 2018

MSc. Thesis 40p

Supervisor: Prof. Dr. Onur KOLÖREN

Sicyos spp., is one of the important weed species in gardens, empty spaces and roadside in the Eastern Black Sea Region. The plant is an invasive species that is easily adapted to its environment with its clinging and climber structure and which compete with other plants and suppress on them.

In this study, population samples of thirty *Sicyos* spp. collected from different locations of Ordu and Giresun provinces were determined to be genetic diversity by using ribosomal DNA (rDNA) Internal Transcribed Spacer (ITS) gene regions. Analyzes were performed by using Neighbour-Joining (NJ), Maximum-Parsimony (MP) and Maximum-Likelihood (ML) algorithm. According to the results, two haplotypes were found. Haplotype-1 and Haplotype-2 were similar 100% *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira and *S. angulatus* L., respectively. A phylogenetic relationship was found 68% and 74% (NJ / MP) between the nine samples and Haplotype-1, respectively. Haplotip-2 was similar to six samples at the rate 69%, 80%, 70% (NJ / MP / ML), respectively for phylogenetic relationship. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira is a new species for our country flora.

Key words: *Sicyos* spp., ITS (Internal Transcribed Spacer), Molecular phylogeny, Invasive weed

TEŞEKKÜR

Tez konunun belirlenmesi, alıőmanın yrtlmesi ve yazımı esnasında en baőta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Onur KOLÖREN'e, laboratuvar alıőmalarında beni ynlendiren Do. Dr. Zeynep KOLÖREN ve Ar. Gr. Seil EKER'e iten teőekkrlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin her aşamasında yanımda olan abim Hami Yeşiltaş'a dedem Apdullah Yeşiltaş'a babaannem Ayőe Yeşiltaş'a babam Nami Yeşiltaş'a annem őefika Yeşiltaş'a ve benden her türlü desteğini, sabrını esirgemeyen Mehmet Yaman'a yürekten teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİM	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR	VIII
EKLER LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	12
3.1 Materyal.....	12
3.1.1 <i>Sicyos</i> spp.....	12
3.1.2 <i>Sicyos</i> spp.'nin Moleküler Çalışmalarında Kullanılan Materyaller.....	15
3.2 Yöntem.....	16
3.2.1 <i>Sicyos</i> spp. Bitki Örneklerinin Elde Edilmesi.....	16
3.2.2 Moleküler İncelemeler.....	18
3.2.2.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	18
3.2.2.2 Ribozomal DNA (rDNA) İnternal Transcribed Spacer (ITS) Gen Bölgesi Analizi.....	21
3.2.2.3 DNA örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntülenmesi.....	22
3.2.2.4 PZR Polimorfizmi ve Genetik Farklılığın Belirlenmesi.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	24
4.1 Moleküler Bulgular.....	24
4.1.1 rDNA-ITS Geni ve Sekans Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri..	25
4.2 <i>Sicyos</i> spp.'nin Filogenetik İlişki Ağacı.....	26
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	29
6. KAYNAKLAR	33
EKLER	38
ÖZ GEÇMİŞ	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1	<i>Sicyos</i> spp. ile Kaplı Bir Ağaç..... 12
Şekil 3.2	<i>Sicyos</i> spp.'nin Genel Görüntüsü..... 13
Şekil 3.3	Dünyada <i>Sicyos angulatus</i> L. 'nin Bulunduğu Yerler..... 14
Şekil 3.4	Türkiye'de <i>Sicyos angulatus</i> L. 'nin Bulunduğu Yerler 15
Şekil 3.5	Ordu ve Giresun İli Haritası 16
Şekil 3.6	<i>Sicyos</i> spp. Örneklerinden DNA İzolasyonu..... 18
Şekil 3.7	<i>Sicyos</i> spp. Örneklerinden Sağlanan Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrolü..... 19
Şekil 3.8	<i>Sicyos</i> spp. Yapraklarından Elde Edilen Genomik DNA' nın Agaroz Jel İçindeki Görüntüsü..... 21
Şekil 4.1	Ordu ve Giresun İllerinden Toplanan <i>Sicyos</i> spp. Örneklerinin rDNA-ITS Gen Bölgesinin Agaroz Jeldeki Görüntüsü..... 24
Şekil 4.2	<i>Sicyos</i> Türleri Arasındaki Filogenetik İlişki Ağacı 27

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1	ITS Primerleri ve Nükleotit Dizilimleri..... 15
Çizelge 3.2	<i>Sicyos</i> spp. Örneklerinin Toplandığı Yerler ve Koordinatları..... 17
Çizelge 4.1	<i>Sicyos</i> spp.'nin Genbank'tan Sağlanan Erişim Numaraları..... 25
Çizelge 4.2	<i>Sicyos</i> spp.'nin rDNA-ITS Gen Bölgesi Haplotipleri ve Örnek Sayıları..... 25
Çizelge 4.3	Haplotipler Arasında Nükleotit Farklılıkları (Koyu Yazılanlar Türe Özgü Nükleotit Pozisyonlarını Göstermektedir)..... 26
Çizelge 4.4	Haplotipler Arasındaki DNA Dizilerinin Benzerlikleri (%) ve İkili Genetik Mesafeleri (Gri Gösterilen) ve Genbank'tan Sağlanan <i>Sicyos</i> spp.'nin Erişim Dizileri..... 28

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	: Santigrant derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
AFLP	: Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
bp	: Baz çifti
cm	: Santimetre
cpDNA	: Kloroplast DNA
CTAB	: Hekzadesiltrimetil amonyum bromit
ddH ₂ O	: Steril su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	: Deoksy nükleotide triphosphate
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
PZR	: Externaltranscribedspacer
g	: Gram
GPS	: Küresel konumlama sistemi
ISSR	: Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm
ITS	: İnternal transcribed spacer
Kb	: Kilobit
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
ML	: Maximum-likelihood
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
MP	: Maximum-persimony
NFW	: Nükleaz free water
ng	: Nanogram
NJ	: Neighbour-joining
nm	: Nanometre
OD	: Optik dansite
pH	: Potensiyel hidrojen
pmol	: Pikomol
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
rDNA	: Ribozomal DNA
RFLP	: Kesilen parça uzunluk polimorfizmi
RNA	: Ribo Nükleik asit
rpm	: Devir/saniye
rRNA	: Ribozomal RNA
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
spp	: Türler
SRAP	: Dizi ilişkili çoğaltılmış polimorfizm
SSR	: Basit dizi tekrarları

TAE : Trisasetateetilendiamintetraasetik asit
V : Volt



EKLER LİSTESİ

Sayfa

Ek 1. Laboratuvar çalışmalarında kullanılan çözeltiler ve kimyasallar.....	37
-----------------------------------------------------------------------------------	----



1.GİRİŞ

Türkiye, bulunduğu konumdan dolayı çok sayıda bitki türünün gen merkezi halindedir. Bitkilerin çeşitlilikleri bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Bunun en önemli nedeni ise; farklı iklim tipleri, topoğrafik çeşitlilikler, jeolojik çeşitlilikler, göl, deniz, akarsu gibi değişik su ortamı çeşitlilikleri, yükseklik farklılıkları ve ekolojik farklılıklardır (Atalay, 1994; Çelik, 2003; Parmaksız, 2004). *Sicyos angulatus* L. bitkisi ülkemizde yeni görülmesine karşın oldukça sık bir yayılma alanına sahiptir. *Sicyos* cinsinin de ilavesiyle ülkemiz florasında Cucurbitaceae familyasına ait 4'ü doğal (*Citrullus* Eckl. & Zeyh., *Ecballium* A. Rich., *Bryonia* L., *Cucumis* L.) ve 5'i de egzotik (*Momordica* L., *Lagenaria* Ser., *Luffa* L., *Cucurbita* L., *Sicyos* L.) olmak üzere toplam 9 cins bulunmaktadır (Duman ve Güner, 1996). Ülkemizde ham bostan, it dolanbacı isimleri ile bilinmektedir (Güner ve ark., 2012). *Sicyos* cinsinin Amerika ve Avustralya'nın tropik ve ılıman bölgelerinde yayılan yaklaşık 15 türü bulunmaktadır. Bitki Kuzey Amerika'da yoğun olarak tarım ile uğraşılan ve sulanan alanlarda sorun oluşturan çok agresif bir yabancı ot olarak kabul edilmektedir. Özellikle mısır, soya ve balkabağı gibi yazlık kültür bitkilerinde sorun oluşturan önemli yabancı otlar arasında yer almaktadır (Messersmith ve ark., 1999, 2000; Shimizu, 1999; Esbenshade ve ark., 2001a; Kurokawa ve ark., 2009). *S. angulatus* kültür bitkilerinde sorun oluşturan bazı zararlı ve patojenlere konukçuluk yapmaktadır (EPPO, 2010). ABD'nin bütün doğu eyaletlerinde, Avustralya'da doğal olarak yayılış gösteren bu tür Kanada'nın doğu eyaletlerinde, Meksika ve Doğu Asya'da da yayılış raporu edilmiştir. 20 yüzyılın başında Avrupa'ya süs bitkisi olarak getirilmiştir (Orman ve Su İşleri Bakanlığı 2014).

İstilacı yabancı ot olan *Sicyos* spp.'nin Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de tespit edildiği 1996 yılından itibaren özellikle Karadeniz Bölgesi'nde tarla bitkileri, meyve ve sebze alanlarında yayılma göstermekte ve zarar oluşturmaktadır (Terzioğlu ve Anşın, 1999, Önen ve ark. 2013). Ülkemize kuzey doğu sınırından girdiği, yatayda Ordu ili dahil dört ilde yayılış gösterdiği, düşeyde ise 1200 m'nin üzerindeki rakımlara kadar ulaşabildiği saptanmıştır (Orman ve Su İşleri Bakanlığı, 2014).

Sınıflandırma canlıların, benzerlik ve akrabalık derecelerine göre gruplara ayırmaya denir. Yabancı otların kültür bitkileriyle olan ilişkilerini belirleme de, bilgi edinme de ve fikir yürütülmesinde yardımcı olmaktadır. Canlılar, çoğunlukla dış görünüşleri (morfolojik yapıları) ve çevreyle olan ilişkileri temel alınarak sınıflandırılmaktadır ve bu tür sınıflandırmalara Suni ya da Ampirik sınıflandırma adı verilmektedir. Diğer bir sınıflandırma tekniği ise; canlıların anatomik, fizyolojik ve köken benzerlikleri, akrabalık dereceleri göz önüne alınarak yapılan sınıflandırmadır yani Bilimsel (Doğal ya da Filogenetik) sınıflandırmadır. Bu sınıflandırma kullanılan temel özelliklerden biri de moleküler teknikler (genetik markörler) kullanılarak yapılan sınıflandırmadır ve son zamanlarda canlıların sınıflandırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Hoffmann ve Frodsham, 1993).

Markör kullanılarak yapılan seleksiyon işlemleri bitki ıslahında karşılaşılan sorunlara çözüm bulmak amacıyla geliştirilmiştir. Markör kullanılarak yapılan seleksiyon tekniği, gen transferleri, gen izolasyonları ve klonlama gibi işlemlerde kullanılmaktadır. Bu yöntem oldukça hızlı, ekonomik, doğrudur ve klasik ıslaha fazlasıyla yardımcı olacağı düşünülmektedir (Eserkaya ve ark., 2010).

Morfolojik markörler, bitkilerin morfolojik özelliklerine bakılarak, bitkilerin kalıtsal yapısını dışa yönelten gözle görülen kısmın tümüne dayalı yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmada bitkilerin boyu, yaprak boyu, kapsül eni, kapsül boyu, çiçeklenme zamanı gibi kısımların birbirlerine olan oransal, şekilsel ve işlevsel yapılarına bakılarak yapılmaktadır. (Liu, 1998; Özşensoy ve Kurar, 2012).

Biyoteknoloji günümüzün en ünlü ve yeniliklere açık bilimsel çalışmalarının başında gelmektedir. Özellikle bitki biyoteknolojisinde kullanılan moleküler markör teknolojileri çok önemli bir araçtır. Moleküler markör demek; genomda herhangi bir gen bölgesini temsil eden DNA parçası demektir. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) bulunmasından sonra Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm (AFLP), Basit Dizi Tekrarları (SSR), Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (SRAP), Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) ve Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) gibi çok fazla sayıda moleküler markör teknikleri bulunmuştur. Bu markör teknikleri; soy ağacı çalışmaları, yeni gen keşifleri, genetik çeşitlilik araştırmaları gibi çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Filiz ve Koç, 2011).

DNA barkotları (DNA taksonomi), biyolojik çeşitliliğin ve türlerin belirlenmesinde standart DNA bölgelerinin kullanılmasına dayalı yeni ve yararlı bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle taksonomik açıdan problemlili türlerin aydınlatılması için bitki barkot çalışmalarının ülkemiz için ne kadar önemli olduğu da ortaya çıkmaktadır (Filiz ve Koç, 2012).

Çalışmanın amacı, Doğu Karadeniz Bölgesi Ordu ve Giresun illerinden toplanan *Sicyos* türlerinin PZR tekniği kullanılarak ITS primerleri yardımıyla moleküler filogenisinin belirlenmesidir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mann ve ark., (1981) *S. angulatus* tohumlarının mekanik olarak zedelenmesi, su emiliminin ve çimlenmenin artmasını araştırmışlardır. *S. angulatus* çimlenmesi 15 ila 35°C arasında değişen sıcaklıklarda olmakla beraber optimum çimlenme 20 ila 30°C'de meydana gelmiştir. Ozmotik potansiyelden bağımsız olarak, bozulmamış *S. angulatus* L. tohumları çimlenmemiştir; Tohumlar -6 barlar da çimlendirilmiştir. 18 hafta boyunca 4°C'de soğuk hava deposunda bekletilmiştir. Ekim, sırasıyla 15 ve 16cm'lik derinliklerde olmuştur. Çalışma sonuçlarına göre sınırlı sayıda çimlenme ve büyüme gözlemlenmiştir.

Hulina ve ark., (1996) Kuzey Amerika'da, *Sicyos* spp.'nin çit sıralarında, çalılıklarda ve çorak arazilerinde zengin alüvyal topraklarda yaygınlığını belirlemek üzere çalışma yapmışlardır. 19. yüzyılda *S. angulatus* Avrupa'da süs amacıyla tanıtılmıştır. Bir noktada kültürden çıkarılmış ve kontrolsüzce yayılması engellenememiştir. Kabakgil bitkilerinde yabancı ot, daha sonra anız tarlalarının kenarındaki yonca ekinlerinde fark edilmiştir. Hırvatistan'daki *S. angulatus*'un dağılmasının ve hareketinin yakından izlenmesi, zararı önlemek için önemli olduğu tavsiye edilmiştir.

Jobs ve ark., (1998) farklı cinslere ait yirmi altı türün filogenetik ilişkilerini Cucurbitaceae familyası dizilerden tahmin edilmiştir. Tüm ITS bölgeleri PCR tekniği ile amplifiye edilmiştir. Filogenetik ilişkiler bazı türlerin ITS dizilerinden anlaşılakta ve morfolojik verilerle uyumludur. Sonuç olarak Yeni Dünya türlerinin bir polifrotik kökeni dikkate alınmalıdır. Cucurbita cinsinden farklı bir türdeki ITS dizilerinin "türleri" vardır ve yüksek introgresyon sıklığı nedeniyle poliploidizasyon olaylarından dolayı düşük intraspesifik değişkenlik tespit edilmiştir.

Terzioğlu ve ark., (1999) Doğu Karadeniz Bölgesi'nden (A8 Artvin: Borçka) ilk kez tanımlanan *S. angulatus*, A7 Trabzon: Yomra, A8 Trabzon: Araklı, Of ve Çaykara yörelerinde de saptanmışlardır. Ayrıca yapılan Morfolojik ölçümlere göre geniş bir betimi yapılmıştır. Diğer yandan *S. angulatus* cinsinin de ilavesiyle değiştirilen Cucurbitaceae familyasının cins tanımlama anahtarı İngilizce olarak yeniden düzenlenmiştir.

Shimizu, (1999) *S. angulatus*'un Japonya'da mısır mahsullerinde mısır verimini 15-20 bitki / 10 m²'lik bir popülasyonda% 80 ve 28-50 bitki / 10 m² ile % 90-98 oranında azalttığını saptamışlardır.

Esbenshade ve ark., (2001b) 1998 ve 1999'da Güneydoğu Pennsylvania'da toprak işleme ve soya fasulyesi sıra aralığının belirlenmesi, ortaya çıkışı ve büyümesi üzerindeki etkisini incelemek üzere bir çalışma yapmışlardır. İkinci bir deneyde ise, *S. angulatus* kontrolünde çıkış sonrası soya fasulyesi herbisitleri değerlendirmişlerdir. Toprak işleme ve sıra aralığı çalışmasında, 38 ila 76 cm sıra aralıklarında, tortullaşmamış ve indirgenmiş toprak işleme sistemlerinde glifosata dirençli bir soya çeşidi ekilmiştir. Çıkış sonrası herbisit deneyinde, klorüruron, glifosat, CGA-277476, tifensülfüron ve bu herbisitlerin çeşitli kombinasyonları, azaltılmış toprak işleme sisteminde ekilen 38 cm'lik soya fasulyesinin de iki farklı çıkış sonrası uygulaması yapılmıştır. Sıra aralığının, ortaya çıkması veya biyokütle üretimi üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Genel olarak, çoğu çıkış sonrası herbisit programı kontrol altına almış, erken çıkış sonrası ile geç çıkış sonrası uygulama zamanlamaları arasında fark bulunmamıştır.

Rodríguez-Arévalo, (2003) Meksika ve Guatemala eyaletlerinde yapmış olduğu çalışmada yeni bir *Sicyos* türü bulmuştur. Çalışmada toplanan *Sicyos* spp. türleri 1400 ila 3800 m yükseklikteki alanlardan toplanmıştır. Yeni bulunan türün adı ise *S. lirae*'dir. Bu türün stigma loblarının şekli, yumurtalık ve meyve bakımından da *S. galeottii*'a benzediğini belirtmiştir.

Rodríguez-Arévalo ve ark., (2004) yürütmüş oldukları çalışmada Meksika'da iki yeni *Sicyos* türü saptamışlardır. Yapmış oldukları taksonomik çalışmalar sonucunda Guerrero eyaletinden alınan örneğin *S. cordifolius*'a, Oaxaca eyaletinden alınan örneğin ise, *S. bulbosus* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

Tzonev, (2005) Birkaç Avrupa ülkesinde iyi bilinen bir Amerikan türü olan *S. angulatus*'u Bulgaristan'da ilk kez 2004 yılında bir çalışma esnasında Belene (Persina) adasında bulmuştur.

Delmiglio ve Pearson, (2006) *S. australis*'in Yeni Zelanda'da tek doğal kabakgil olduğunu ve nesli tükenmekte olan bir tür olduğunu bildirmişlerdir. Hıyar mozaik virüsü (CMV) ve Kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV), doğada bulunan önemli

virüslerdir ve Yeni Zelanda'daki yaprak biti vektörleriyle birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *S. australis* 'in büyümesi ve kalan popülasyonlarında, cucurbit virüs hastalıklarının insidansı üzerinde *S. australis* enfeksiyonu üzerine enfeksiyonun etkileri araştırılmıştır. CMV izolatları NZ100 ve NZ119 ile yapılan deneysel enfeksiyonlar, inokülasyondan 2–3 hafta sonra ortaya çıkan ciddi semptomlara neden olmuştur *S. australis*'in Kabak sarı mozaik virüsünün doğal konukçusu olduğu saptanmıştır.

Kill ve ark., (2006) doğal olarak geliştirilen d-Limonenin herbisit aktivitesini, *S. angulatus*'un sera ve açık alan yetiştiriciliği yapılan yerlerde biyoçeşitliliğini ve zarar verme oranını belirleme üzerine bir araştırma yapmışlardır. Test edilen konsantrasyonlar arasında, d-Limonenin sera koşullarında erken yaprak döneminde uygulamasının (yaprak aşaması 1.5 ve 3 ile) en fazla etkinlik gösterdiği sonucuna varılmıştır. D-Limonen konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, sera koşullarındaki etki o kadar iyi olduğu, açık alanlarda 2, 3 ve 5 yapraklı dönemde yapraklarda d-Limonen konsantrasyonları ne kadar yüksek olursa, ayıklama etkisi o kadar yüksek olduğu görülmüştür. Dikkate değer etki, özellikle d-Limonen ile bulunan bitkilerde az bulunurken d-Limonen'de fazla bulunmuştur. Dış tedavi etkisi altında d-Limonen ile tedavi edilen *S. angulatus*'un 15 yaprak aşaması durumunda etkisi düşük olmuştur. D-Limonenin açık alan da sera koşullarına göre artıma etkisi daha fazla olduğu belirlenmiştir. 5 yaprak aşaması ile *S. angulatus*'ui kontrol edebilen d-Limonenin tavsiye edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Koçyan ve ark., (2007) 800 tür içerisinde bulunan 130 cinsin kabakgiller arasında ekonomik olarak en önemlileri olduğunu saptamışlardır. Daha sonra iki gen, bir intron ve iki aralayıcıdan kloroplast DNA sekanslarına dayanan filogenileri saptanmıştır. Moleküler veriler geleneksel alt aileleri Cucurbitaceae'yi (111 cins) zayıf bir şekilde desteklemiştir. Sonuç olarak elde edilen veriler dahilinde çiçek karakterleri, özellikle serbest stil sayısı, filament füzyonları ve anterler, tendril tipi, ve polen büyüklüğü, eksin ve delik sayısı kloroplast filogenisi ile iyi korelasyon gösterirken, aynı zamanda petal ve meyve karakterleri karyotip, çok sayıda evrimsel esneklik sergilemiştir.

Lee ve ark., (2007) *Amaranthus spinosus* L. ve *S. angulatus* gibi zararı yüksek egzotik yabancı otların bazı herbisitlere karşı tepkisini ortaya çıkarmak amacıyla çalışma yapmışlardır. *S. angulatus* esas olarak suyollarında, ahırda ve anon ekili arazilerde meydana geldiği saptanmıştır. Bu yabancı otlar ekilebilir arazilerde Linuron (WP) ve Simazin (WP) ile etkili bir şekilde kontrol edilmiş ve ekilmemiş arazilerde diklobenil, imazaquin GR, dicamba SL, mecoprop SL, glifosat SL ve glufosinat amonyum SL ile kontrol edilmiştir. Yine aynı çalışmada *A. spinosus*, Dicamba (SL), Mecoprop (SL) ve Pendimethalin (EC) Mecoprop (SL)' nin kombinasyonu ile daha etkin bir şekilde kontrol edildiği ve optimum uygulama süresi Haziran ayı ortasından Temmuz ortasına kadar olduğu bildirmişlerdir.

Moon ve ark., (2008) boş alanlarda *S. angulatus* baskınlığının yabancı otların değişimi üzerindeki etkisini ve dağılımını incelemişlerdir. Haziran başında ve Ağustos sonunda yapılan araştırmada *S. angulatus*'un meydana geldiği toplam sahalar arasında yüzde elli iki oran, nehir kenarı boyunca büyük ölçüde dağılmış ve dinlenme habitatları sırasıyla tepelerde, yol kenarlarında, açık alanlarda ve ekili alanlarda % 17, % 13, % 9 ve % 9'luk bir oluşum oranı gösterdiği tespit edilmiştir.

Kurakawa ve ark., (2009) istilacı bitkileri kontrol etmek ve etkili prosedürlerin geliştirilmesi için, bitki genetik çeşitliliğinin anlaşılmasının önemli olabileceği yayılma mekanizmalarını öğrenmek gerektiğini dile getirmişlerdir. *S. angulatus*, Japonya'daki yem bitkileri ve doğal bitki örtüsü arasında yetişen yaygın ve istilacı bir yabancı ot olduğu belirtilmiştir. Basit bir sekans tekrarı (ISSR) genotiplemesi, *S. angulatus*'un Japonya'daki tanıtılmış bölgesel genetik varyasyon modellerini saptamak için kullanılmıştır. Bu araştırmanın amacı, Japonya'daki *S. angulatus*'un yayılma dinamiklerini ve yayılma mekanizmasını değerlendirilmesi olarak yapılmıştır. Dört adet ISSR primeri ile 15 güvenilir bant elde edilmiş ve bunların 12'si orta ve kuzeydoğu Japonya'da altı alan arasında polimorfik olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, aynı gen havuzlarından Japonya'nın hem orta hem de kuzey doğu bölgelerine çoklu girişler olduğu sonucuna varılmıştır.

Schaefer ve ark., (2009) 115 türün 114'ü ve 960 türün yüzde 25'i için bir multigen filogenisi kullanarak, en ekonomik öneme sahip bitkilerin ailelerinden biri olan Kabakgilleri çalışmışlardır. Dünya çapındaki örnekleme için, 30 herbaryumdan

örnekler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan çıkan sonuçlar, örneklerin Asya kökenli Kabakgiller olduğunu saptamışlardır.

Ali ve ark., (2010) Nükleer ribozomal (ITS) poliformizmi yöntemi kullanılarak, filogenetik ilişkileri değerlendirmek üzere Cucurbitaceae familyasına ait 18 alt türü analiz etmişlerdir. Elde edilen verilere göre *Benincasa*, *Coccinia*, *Cucumis*, *Diplocyclos*, *Lagenaria* ve *Solena*, arasında % 78 oranında benzer bulunmuştur. Bu gruplardan *Benincasa*, *Cucumis* türleri arasında ise % 80 arasında benzerlik saptanmıştır. *Lagenaria*, *Diplocyclos-Coccinia-Solena* alt grupları arasında ise % 78 benzer olduğu, *Trichosanthes* ve *Luffa*, arasında % 93 benzerlik olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada yer alan *Benincaseae* ve *Joliffeae* türlerinin birbirinden farklı olduğuna ulaşılmıştır.

Eserkaya ve ark., (2010) göre gelecekte artması beklenen nüfusun temel besin ihtiyacı da artacağı için, bu ihtiyaçları karşılamada yeterli olmak için üretimin artırılması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu sebeple üretimi arttırmanın en etkili yolunun bitki ıslahı olduğu düşünülmektedir. Fakat pek çok bitki türünde genetik çeşitlilik daralma gösterdiğinden dolayı gerekli tescilli çeşitlerin genlerinin kültür çeşitlerine aktarılması gerekmektedir. Ancak bu konuda pek çok problemlerle karşılaşmaktadır. Markör kullanılarak yapılan seleksiyon işlemleri bitki ıslahında karşılaşılan bu sorunlara çözüm bulmak amacıyla geliştirilmiştir. Markör kullanılarak yapılan seleksiyon tekniği, gen transferleri, gen izolasyonları ve klonlama gibi işlemlerde kullanılmaktadır. Bu yöntem oldukça hızlı, ekonomik ve doğrudur ki klasik ıslaha fazlasıyla yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Qu ve ark., (2010) *S. angulatus* tohum gelişimini tozlaşmadan tohum olgunluğuna kadar tanımlamış ve literatürde bildirilen diğer familyalarda su geçirmeyen tohumların gelişimi ile karşılaştırmışlardır. *S. angulatus*'ta tohum dormansi ve çimlenme ile ilgili önceki bir araştırmaya dayanarak, bu tohumlardaki çimlenmenin, iç zarın ve meyve-tohum katının embriyo genişlemesine karşı direnciyle önlenebileceği önerilmiştir. *S. angulatus*'taki tohum gelişimi ile ilgili bilgiler, tek yıllık ot için yönetim stratejilerinin zamanlamasını planlamada yararlı olacağı bildirilmiştir.

Filiz ve Koç'a (2011) göre biyoteknoloji günümüzün en ünlü ve yeniliklere açık bilimsel çalışmalarının başında gelmektedir. Özellikle bitki biyoteknolojisinde kullanılan moleküler markör teknolojileri çok önemli bir araçtır. Moleküler markör demek; genomda herhangi bir gen bölgesini temsil eden DNA parçası demektir. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) bulunmasından sonra Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm (AFLP), Basit Dizi Tekrarları (SSR), Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (SRAP), Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) ve Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) gibi çok fazla sayıda moleküler markör teknikleri bulunmuştur. Bu markör teknikleri; soy ağacı çalışmaları, yeni gen keşifleri, genetik çeşitlilik araştırmaları gibi çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Sonuç olarak, bu moleküler markörler biyoteknolojik çalışmalara çok önemli katkılar sağlamış ve etkili ve hızlı sonuçların alınmasına yardımcı olmuştur. Bu çalışmada ise; kullanılan moleküler markör tekniklerin genel koşulları, faydaları, zararları ve uygulama ortamlarından bahsedilmiştir.

Lima ve ark., (2011) sekiz farklı *Cyclanthera* ve üç *Sicyos* türünün polen morfolojisini, ışık ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelemiştir. *Cyclanthera*'nın polen tanecikleri, ortalama polar çapı 51.40 µm' dir. *Sicyos*'un polen tanelerinin ortalama polar çapı ise 50.60 µm' dir. Sonuç olarak ise bu cinsler ve türler arasındaki farklılıklar ortaya konmuştur.

Xiaoxia ve ark., (2011) *S. angulatus*'un tohumlarında fizyolojik uyusukluğun (PD) var olduğunu doğrulamak amacıyla ile bir çalışma yapmışlardır. *S. angulatus* L tohumlarının su geçirmeyen bir tohum kabuğuna (fiziksel dormansi [PY]) sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonuçlarına ve literatürde bildirilen bilgilere dayanarak, *S. angulatus* tohumlarının sadece PY değil, aynı zamanda derin olmayan PD, yani kombinasyonel uyusukluk (PY + PD) olduğu sonucuna varılmıştır.

Uchida ve ark., (2012) 2006-2009 yılları arasında Japonya'da Tama Nehri yatağında bio-monitör yardımı ile yaptıkları gözlemlerinde nehir yataklarında istilacı bitkilerin birçok doğal türü baskıladığını ve bu türler içerisinde *S. angulatus*'un önemli istilacı yabancı otlarından biri olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *Miscanthus sacchari florus*'un *S. angulatus* kolonileri ile birlikte en sık (% 60.4) bulunan otsu tür olduğunu saptamışlardır.

Villa-Rodriguez, (2012) Puebla (Meksika) San Andrés Cholula şehrinde bulunan Puebla Üniversitesi, Universidad de las Américas Kampüsü'ndeki kentsel bahçelerdeki üç çalışma yerinden alınan örneklerden *S. deppei*'nin üreme sistemi ve polinatörlerini araştırmışlardır. *S. deppei*'nin, farklı bitkilerden ve aynı bitkilerin poleninden gelen polenle tozlaştığı zaman, meyve ve tohum oluşturabilen bir karma-birleşme sistemine sahip olduğunda göstermiştir. En son olarak bu çalışmada *S. deppei* için en etkili tozlayıcının *Apis mellifera* olduğunu ve yağışlı mevsim boyunca, bitkide ve bitki seviyesinde *S. deppei*'nin fenolojisini ve toplam bitki uzunluğunu açıklamıştır.

Telford ve ark., (2012) Avustralya ve Yeni Zelanda'da üç tür *Sicyos*'un varlığını saptamışlardır. Moleküler veriler bu üç türün *Si. undara*, *S. mawhai* ve *S. australis*' olduğunu göstermiştir. Ayrıca üç türe ait teşhis anahtarı ve yaşam alanları da araştırılmıştır.

Ntuli ve ark., (2015) KwaZulu-Natal Eyaleti'nde bulunan üç ilçeden yedi adet *Cucurbita pepo* örnekleri toplamışlar ve polimorfik DNA (RAPD) ve basit sekans tekrarı (SSR) işaretleyicileri kullanılarak *Cucurbita pepo* çoğaltılmıştır. SSR belirteçleri toplam 56 allelin, 38'inin (% 68) polimorf olduğunu göstermiştir. Elde edilen veriler dahilinde Güney Afrika'nın kuzeyindeki KwaZulu-Natal adasındaki *C. pepo* bitkisinde bol miktarda genetik çeşitlilik olduğunu göstermiştir.

Kolören ve ark., (2016) Türkiye'nin Ordu ilinden topladıkları 19 *Artemisia* spp. örneğinin rDNA ITS gen bölgelerini analiz yaparak filogenisini bildirmişlerdir. Datalar sonucunda iki haplotip belirlemişlerdir. Haplotip-1 içerisinde; Fatsa 2 isimli örnek yer almaktadır. Haplotip-2 içerisinde; Gülyalı 1, Gülyalı 3, Gülyalı 4, Gülyalı 6, Fatsa 4, Fatsa 5, Fatsa 6, Perşembe 4, Perşembe 5, Perşembe 6, Ünye 1, Ünye 2, Ünye 3, Ünye 4, Ordu 1, Ordu 3, Ordu 4 ve Ordu 6 isimli örnekler yer almaktadır. Haplotip-1 *Artemisia sylvatica* ile % 98.6 oranında benzer bulunurken, Haplotip-2 *Artemisia sylvatica* ile % 98.8 oranında benzer bulunmuştur.

Korkmaz ve ark., (2016) dünya üzerinde önemli bir istilacı tür olan ve ülkemizde de Karadeniz Bölgesi'nde yayılmış olan *S. angulatus*'un konukçuluk ettiği viral etmenleri belirlemek amacıyla çalışma yapmıştır. Virüslerin tanınması Double Anti body Sandwich ELİSA (DAS ELİSA) testi ile Cucumber Mosaic Virus (CMV),

Tobacco Mosaic Virus (TMV), Tomato Mosaic Virus (ToMV), Watermelon Mosaic Virus (WMV-2), Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV), Squash Mosaic Virus (SqMV), Papaya RingspotVirus(PRSV), PotatoVirus Y(PVY) antiserumları kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Yapılan testlerden elde edilen Cucumber Mosaic Virus (CMV), Tobacco Mosaic Virus (TMV), Tomato Mosaic Virus (ToMV), Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV), Squash Mosaic Virus (SqMV), Papaya Ring spot Virus (PRSV), Potato Virus Y (PVY) virüslerine rastlanmamıştır fakat WMV-2 tespit edilmiştir. Türkiye’de WMV-2’nin *S. angulatus* üzerinde doğal olarak enfeksiyon oluşturduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Osawa ve ark., (2016) yaptıkları çalışmalarda istilacı yabancı otların kùltür bitkilerine vermiş olduğu zararı tahmin etmek için yöntemler araştırmışlardır. Çalışma olarak, Japonya’daki Miyagi Eyaletinde potansiyel olarak zarar oluşturan hükümet verilerine dayanan bilgiler doğrultusunda, istilacı bir yabancı ot, *S. angulatus*’un meydana getirdiği zararı tespit etmek istemişlerdir. Bu sonuçları ise ekin alanlarında görùlen *S. angulatus*’un verileri kullanılarak sunulmuştur.

Kim-Hoon ve ark., (2017) Kuzeydoğu Amerika Birleşik Devletleri kaynaklı asma bitkisi gibi sarılıcı tırmanıcı bir tür olan *S. angulatus*’un zehirli bir istilacı bitki olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 *Sicyos* spp.

Sicyos spp. Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasına dâhil sarılıcı/tırmanıcı bir sarmaşıktır. Bitki otsu formda ve tek yıllık olup yılın soğuk aylarında tamamen donarak ölmektedir. Üremesi tohumladır. Sarmaşık formundaki bitkinin gövdesi yoğun bir şekilde tüylü ve oldukça dallanmış olup oluklu köşelidir (Şekil 3.1). Bitkiye tırmanma yeteneğini veren sülükler 3-5 cm uzadıktan sonra dallanır (3 - 5 dallı). Sülükler tutunacak bir destek bulduğunda temas noktasında bir yandan buldukları desteğe sarılırken diğer yandan kendi etraflarında dönerek spiraller oluşturur. Bu tutunma mekanizması sayesinde bitki bir asma gibi tırmanarak 6-8 metre boya ulaşabilir (EPPO, 2010; Medley, 2013).



Şekil 3.1 *Sicyos* spp. ile Kaplı Bir Ağaç

Yaprak boyutları bitkinin bulunduğu ekolojiye bağlı olarak değişmekle birlikte, genel olarak 7 - 8 cm uzunluk ve genişliğe sahiptir. Yaprak ayası yuvarlağımsı geniş, basit, palmat damarlı ve genellikle derin olmayan 5 loba sahiptir. Yaprak kenarları dişli ve yaprak ayasının sapa bağlandığı kaide alp şeklinde derin lobludur. Yapraklar

saplı, yaprak ayasının alt kısmı ve 2,5 – 5 cm uzunluktaki yaprak sapı tüylüdür. Bitki yüzeysel olarak yoğun dallanmış bir kazık köke sahiptir (EPPO, 2010; Medley, 2013; Terzioğlu ve Anşin, 1999).

Bitki monoik olup erkek çiçekler salkım veya yalancı şemsiye, dişi çiçekler ise başçık şeklinde tüylü bir sapın ucunda yer alır. Çiçek sapları yaklaşık yaprak sapları aynı boydadır. Kaliks yeşil renkli, tüylü, derince 5 parçalı ve beyazımsı sarı renkli olup yeşil damarlıdır (Terzioğlu ve Anşin, 1999; Medley, 2013).

Meyve kümeleri 2,5-4 cm çapında, başlangıçta yeşil renkli, yumurtamsı ovaldir. Üzeri kısa yün gibi yeşilimsi-beyaz tüyler ve daha uzun sert, batıcı/yapışıcı dikenler ile kaplıdır. Batıcı meyve dikenlerinin üzeri ok ucu şeklinde dişlidir. Etili meyve kabuğu kendi kendine açılmaz olgunlaştığında kurur ve kahverengi bir hal alır. Meyve büyük, bir tek tohum içerir. Tohum; karpuz çekirdeğini andırır.

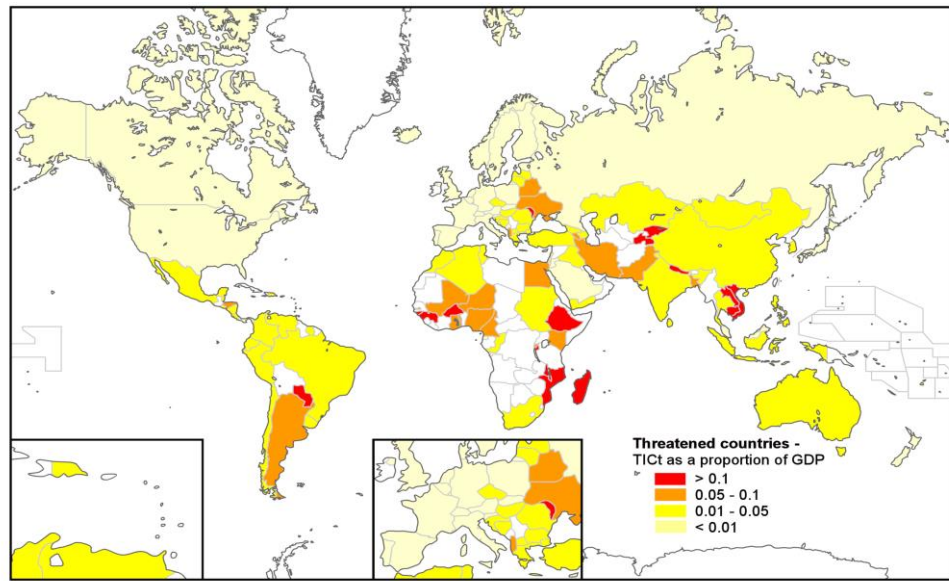


Şekil 3.2 *Sicyos* spp.'nin Genel Görüntüsü

Zehirli olmayan *Sicyos* türünün özellikle yapraklarının ABD'nin bazı bölgelerinde pişirilerek tüketildiği rapor edilmektedir (Tanaka, 1976). Meyveleri ve tohumları da zehirli değildir ancak tüketime uygun olmadıkları için bu yönde bir kullanımı yoktur. Bazı kaynaklarda bitkiden elde edilen dekoksyonların zührevi hastalıklara karşı kullanıldığı belirtilmektedir (Moerman, 1998).

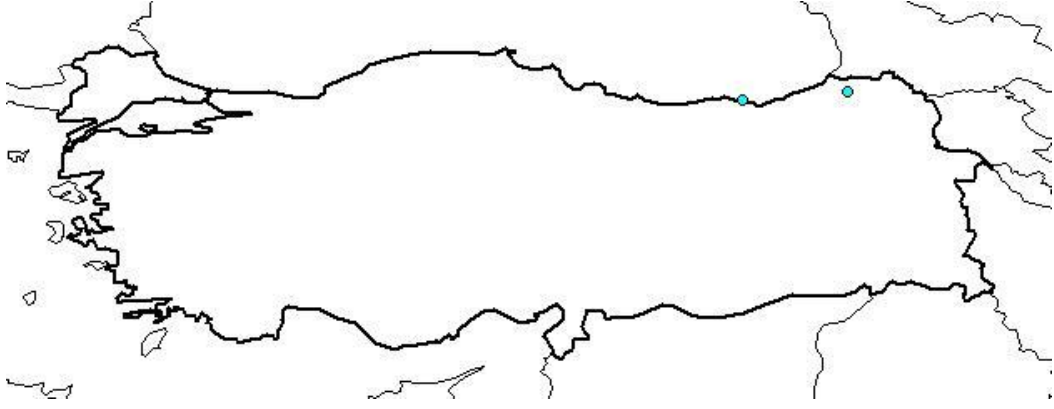
Dünya'da *Sicyos* cinsinin Amerika ve Avustralya'nın tropik ve ılıman bölgelerinde yayılan yaklaşık 15 türü bulunmaktadır (Parmaksız 2004). Dünya'da dağılımı Şekil 3.2'de verilmiştir. Bitki Kuzey Amerika'da yoğun tarım yapılan ve sulanan alanlarda

sorun oluşturan çok agresif bir yabancı ot olarak kabul edilmektedir. Özellikle mısır, soya ve balkabağı gibi yazlık kültür bitkilerinde sorun olan önemli yabancı otlar arasında yer almaktadır (Messersmith ve ark., 1999, 2000; Shimizu, 1999; Esbenshade ve ark., 2001a; Kurokawa ve ark., 2009). *S. angulatus* kültür bitkilerinde sorun oluşturan bazı zararlı ve patojenlere konukçuluk yapmaktadır (EPPO, 2010). ABD'nin bütün doğu eyaletlerinde, Avustralya'da doğal olarak yayılış gösteren bu tür Kanada'nın doğu eyaletlerinde, Meksika ve Doğu Asya'da da yayılışı rapor edilmiştir. 20 yüzyılın başında Avrupa'ya süs bitkisi olarak getirilmiş ancak daha sonra doğal ortama kaçarak istilacı yaygın bir tür haline gelmiştir (Tzonev, 2005).



Şekil 3.3 Dünya da *Sicyos angulatus* L.'nin bulunduğu Yerler (Anonim 2016).

İstilacı bir yabancı ot olan *S. angulatus* L. dünya' da olduğu gibi ülkemizde de tespit edildiği 1996 yılından itibaren özellikle Karadeniz Bölgesi'nde tarla bitkileri, meyve ve sebze alanlarında yayılma göstermekte ve zarar oluşturmaktadır (Terzioğlu ve Anşin, 1999; Önen ve ark., 2013). Ülkemize kuzey doğu sınırından girdiği, yatayda Ordu İli dahil çalışmaya konu dört ilde yayılış gösterdiği, düşeyde ise 1200 m'nin üzerindeki rakımlara kadar ulaşabildiği saptanmıştır (Şekil 3.3).



● *Sicyos angulatus* L.

Şekil 3.4 Türkiye’de *Sicyos angulatus* L.’nin Bulunduğu Yerler (TÜBİVES, 2014)

3.1.2 *Sicyos spp*’nin Moleküler Çalışmalarında Kullanılan Materyaller

Yürütmüş olduğumuz moleküler çalışmada, kullanılacak bitki örneklerinden DNA elde etmek üzere yapılan işlemlerde DNA’ nın kimyasal ve fiziksel etkilere maruz bırakılması ile diğer moleküllerden ayrılması sağlanmıştır. Biyolojik materyalin DNA’sının kimyasal bir değişikliğe uğramamasına dikkat edilerek sıvı nitrojen (sıvı azot) ile fiziksel öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon prosedürü olarak, Haymes’in (1996) CTAB protokolü modifiye edilerek *Sicyos spp*’nin yapraklarından DNA elde edilmiştir.

Elde edilen DNA’ların PZR çalışmaları için Ribozomal DNA (rDNA) internal transcribed spacer (ITS) gen bölgeleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 ITS Primerleri ve Nükleotit Dizilimleri

Primer	Baz dizisi	pmol/µl
ITS1	5' AATGCGTGTTT 3'	100 pmol/µl
ITS4	5' GTCTAGTTCAG 3'	100 pmol/µl

3.2 Yöntem

3.2.1 *Sicyos* spp. Bitki Örneklerinin Elde Edilmesi

Doğu ve Orta Karadeniz Bölgeleri'nde sorun teşkil eden *Sicyos* spp.'nin filogenetik farklılıklarının ITS primerleri ile PZR yöntemi denenerek tespit edilmesi hedeflenen çalışmada, Ordu ve Giresun illerinden fındık bahçeleri ve boş alanlardan 30 *Sicyos* spp. populasyon örneği toplanmıştır (Şekil 3.5). Bitki örneklerin toplandığı yerlerin koordinatları GPS ile belirlenmiştir (Çizelge 3.2). DNA ekstraksiyonu için toplanan *Sicyos* spp. örneklerinin genç yaprakları küçük poşetlere konularak laboratuvara getirilmiş ve -80°C de izolasyon işlemi yapılana kadar korunmuştur.



Şekil 3.5 Ordu ve Giresun İli Haritaları (Anonim, 2018).

Çizelge 3.2 *Sicyos* spp. Örneklerinin Toplandığı Yerler ve Koordinatları

Populasyon No	Yer	Enlem	Boylam
G1	Giresun-Merkez	40°52'45"	38°26'21"
G2	Giresun-Merkez	40°52'32"	38°25'17"
K1	Giresun-Keşap	40°54'52"	38°26'37"
K2	Giresun-Keşap	40°53'41"	38°32'41"
K3	Giresun-Keşap	40°52'54"	38°24'.46"
K4	Giresun-Keşap	40°50'.52"	38°30'78"
D1	Giresun-Dereli	40°52'45"	38°26'24"
D2	Giresun-Dereli	40°73'.45"	38°45'06"
D3	Giresun-Dereli	40°57'21"	38°22'21"
D4	Giresun-Dereli	40°52'.16"	38°27'34"
D5	Giresun-Dereli	40°61'.16"	38°33'29"
B1	Giresun-Bulancak	40°56'34"	38°17'8"
B2	Giresun-Bulancak	40°56'41"	38°13'51"
B3	Giresun-Bulancak	40°56'17"	38°12'48"
B4	Giresun-Bulancak	40°53'17"	38°10'6"
P1	Giresun-Piraziz	40°55.56"	38°08'64"
P2	Giresun-Piraziz	40°57'.10"	38°08'32"
G1	Ordu-Gülyalı	40°56'.42"	38°03'16"
U1	Ordu-Ulubey	40°52'.16"	37°41'27"
U2	Ordu-Ulubey	40°50'.31"	37°45'27"
U3	Ordu-Ulubey	40°52'.51"	37°75'27"
F1	Ordu-Fatsa	40°59'.57"	37°30'34"

Çizelge 3.2 devamı

F2	Ordu-Fatsa	40°1'56"	37°28'29"
F3	Ordu-Fatsa	41°1'27"	37°31'23"
ÇT1	Ordu-Çatalpınar	40°54'32"	37°28'18"
ÇT2	Ordu-Çatalpınar	40°52'41"	37°27'22"
ÇT3	Ordu-Çatalpınar	40°53'49"	37°27'38"
ÇM1	Ordu-Çamaş	40°56'19"	37°29'24"
ÇM2	Ordu-Çamaş	40°55'53"	37°30'54"
ÇM3	Ordu-Çamaş	40°57'47"	37°30'21"

3.2.2 Moleküler İncelemeler

3.2.2.1 Genomik DNA İzolasyonu

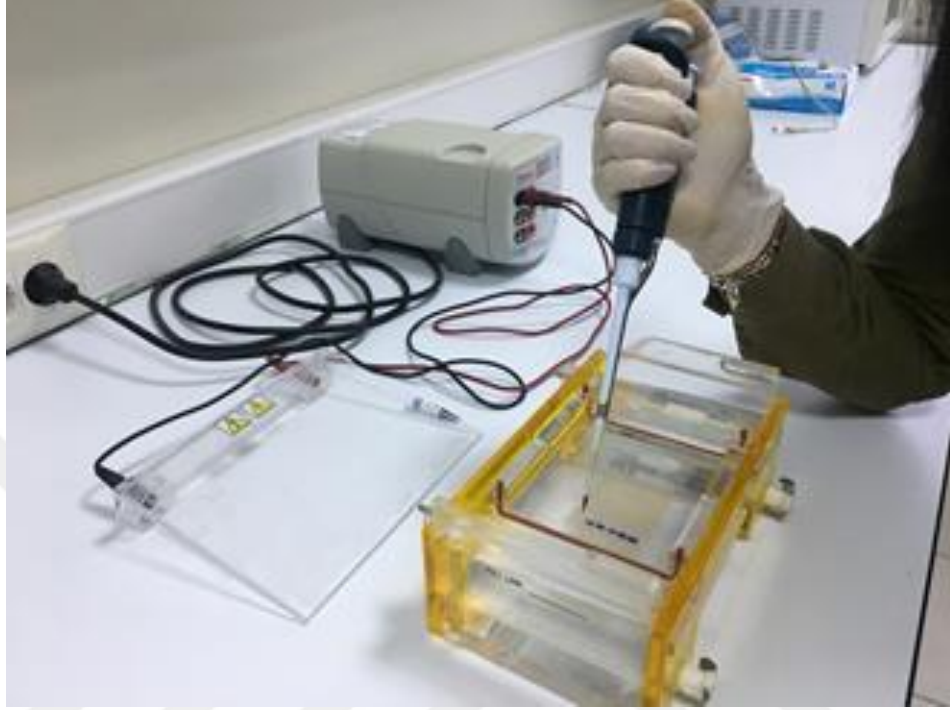
DNA izolasyonunda hücre duvarının kırılarak DNA'nın hücre içerisinde serbest kalması gereklidir. Bunu yapmak üzere Ordu ve Giresun illerinden toplanmış olan DNA bulunduran 30 *Sicyos* türü örneğinin yaprakları mekaniksel olarak sıvı nitrojen (sıvı azot) ile muamele edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 *Sicyos* spp. Örneklerinden DNA İzolasyonu

DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen GmbH, Hilden, Germany (Danquash, 2002) ve Haymes'in (1996) CTAB protokolü modifiye edilerek ekstraksiyon işleminde kullanılmıştır. DNA moleküllerini ayırt etmede kullanılan jel elektroforez yöntemi

yardımı ile DNA içeriği kontrol edilmiştir. Sonuç olarak sarılıcı ve tırmanıcı bir bitki olan *Sicyos* spp. yapraklarından yüksek konstrasyonda ve kısa sürede DNA'nın Haymes'in (1996) Mini-Prep Method (CTAB)'u ile elde edildiği saptanmıştır.



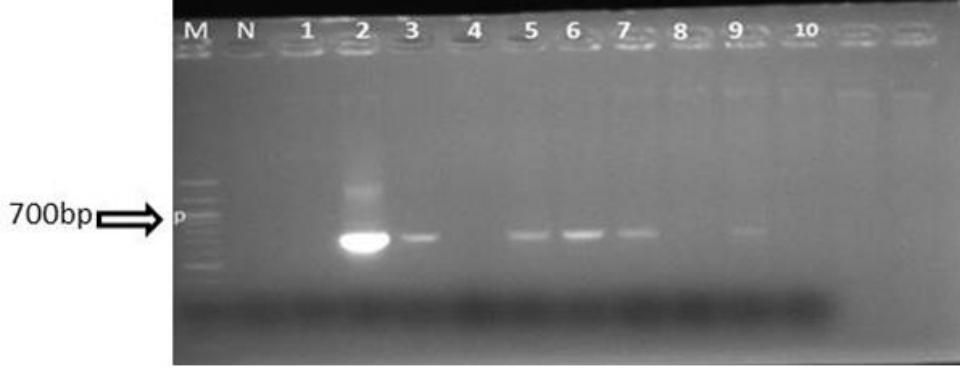
Şekil 3.7 *Sicyos* spp. Örneklerinden Sağlanan Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektrofrezisi ile Kontrolü

Sicyos spp'nin yapraklarından Haymes'in (1996) CTAB protokolü modifiye edilerek aşağıda belirtildiği şekilde DNA izole edilmiştir;

1. 0.02 gr tartılmış olan *Sicyos* türleri eppendorf tüplerinin içine konulmuştur. Sonra içine sıvı azot ilave edilerek havan eli ile hızlı bir şekilde ezilerek hücre duvarının kırılması sağlanmıştır.
2. Ezme işlemi bittikten sonra üzerine 500 µl extraction buffer eklenmiş ve vortexlenmiştir.
3. 30 dk 65 °C su banyosunda bırakılmıştır.
4. Su banyosundan çıkardıktan sonra üzerine 200 µl Cloroform/izoamil alkol (24/1) eklenmiş ve 5 dk 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

5. Santrifüj işlemi bittikten sonra üzerinde kalan sarı şeffaf kısmı mikropipet ile başka eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 600 µl 96/4 Ethanol/Asetat (ETDH/Asetat) dökülmüştür. Daha çok DNA elde etmek için 5 dk -20 °C buzluğa bırakılmıştır.
6. Buzluktan çıkardıktan sonra tekrar 5 dk 10.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve sonra üzerindeki sıvılar dökülmüştür. Üzerine 300 µl Etanol konulmuş ve 5 dk 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Sonra pellet dipte kalacak şekilde üstteki supernatant uzaklaştırılmıştır. Eppendorf tüpü kurutma kağıdının üstüne ters çevirilerek bekletilmiştir (yaklaşık 5 dk).
7. Üzerine 50 µl NFW ve 1 µl RNase (100mg/ml) döküldükten sonra 37 °C'de 1 saat bekletilmiştir.
8. DNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de korunmuştur.

Bitkilerde moleküler filogeni çalışmalarında yüksek konsantrasyonlu DNA'ların PZR reaksiyonlarındaki başarısı için önemlidir. DNA örnekleri % 1,4'lük agaroz jel TAE bufferda (0.04 M Tris-acetate, 1Mm EDTA, Ph=8) 100 V'ta 60 dk boyunca elektroforez edilmiştir. Jeller 0.2 µg/ml ethidium bromid'e daldırılarak ve jel dökümantasyon sistemi (Gel DocBioRad 2000) sistemi kullanılarak görüntülenmiştir. DNA'nın miktar ve kaliteli saflığı, spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen değerlerden saptanmıştır. 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml, tek iplikli DNA veya RNA için 40 µg/ml ve oligonükleotidler için 20 µg/ml'ye karşılık gelmektedir. İzole edilen DNA çift iplikli olduğunda miktar tayininde bu formülden yararlanılmıştır: DNA (µg/ml)=260 nm'deki OD (Absorbans değeri) x sulandırma oranı x 50. DNA miktarı ve temizliği spektrofotometre'de ölçülmüştür.



Şekil 3.8 *Sicyos* spp. Yapraklarından Elde Edilen Genomik DNA' nın Agaroz Jel İçindeki Görüntüsü. Kuyucuk M: 100 bp ladder (New England Biolabs), Kuyucuk N: Negatif, Kuyucuk 2, 3, 5, 6, 7, 9: Haymes'in (1996) CTAB Protokolü ile Elde Edilen Genomik DNA.

3.2.2.2 Ribozomal DNA (rDNA) İnternal Transcribed Spacer (ITS) Gen Bölgesi Analizi

Ribozomal DNA (rDNA) internal transcribed spacer (ITS) gen bölgesi analizinde kullanılacak olan primerlerin konsantrasyonlarının belirlenmesi için hazırlanan stok solusyondan her μl 'sinde 10 pmol primerlerden 200 nM gelecek şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan solüsyon içerisinde 1, 1.5 ve 2 μl kullanılarak bant oluşumları gözlenmiştir. ITS1 ve ITS4 primerleri Mini-Prep Method'u ile elde edilen DNA'ların PZR çalışmaları için kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan döngü parametreleri ise; 25 μl 'lik reaksiyon hacminde aşağıdaki maddeleri içeren her bir primerin yardımıyla bu yöntem uygulanmıştır;

PZR karışımının içeriği:

Genomik DNA: 1 μl DNA (50 ng/ μl)

ITS1 Primer: 0.5 μl (2.5 mM)

ITS4 Primer: 0.5 μl (2.5 mM)

25 mM MgCl_2 : 3 μl

2.5 mM dNTP: 0.4 μl

10XPCR Buffer: 2.5 μl

Tag DNA Polimeraz: 0.4 µl (5U/µl)

ddH₂O: 16.7 µl

Reaksiyon Hacmi: 25 µl

Amplifikasyonda, 2400 Perkin Elmer Gene Amp PZR yöntemi şu şekilde uygulanmıştır: 95 °C’de 15 dk, sonrasında 35 döngü; 94 °C’de 1 dk, 52 °C’de 2 dk ve 72 °C’de 2 dk. En sonunda reaksiyon 72 °C’de 10 dk inkübe edilmiş ve örnekler cihazdan alınmaya kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir

3.2.2.3 DNA örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntülenmesi

% 1.5’lük agaroz jel TAE buffer (0.04 M Tris-acetate, 1Mm EDTA, Ph=8) PZR ürünlerinin elektroforezinde kullanılmıştır. Oluşturulan Jel için; 1.5 gr agaroz tartılmıştır. Daha sonra 50 ml 10xTAE, 450 ml saf su ile tamamlanarak 500 ml 1xTAE elde edilmiştir. Tartılan 1.5 gr agaroz ile 100 ml 1xTAE birleştirilerek 2 dk mikrodalga içerisinde eritilmiştir. Oluşan karışım mikrodalgadan çıkartıldıktan sonra boya olarak Ethidium Bromür (0.2 µg/ml) eklenmiştir. Yatay tipte olan elektroforez cihazının (Shimadzu UV-1800) jel hazırlama kabına dökülmüştür. Katılaştıran jel, içerisinde max çizgisinin bulunduğu 1xTAE tampon çözeltisi bulunan elektroforez cihazının tankına yerleştirilmiştir. PZR tüpleri içindeki reaksiyon karışımından 5 µl, 2 µl yükleme tamponuna (Loading Dye Solution) eklenerek karıştırılmış ve bu karışım 7 µl olarak jeldeki kuyucuklara yerleştirilmiştir. İlk kuyucuğa 1 Kb’lık DNA marker yüklendikten sonra cihaz 100 V’da 60 dk boyunca elektroforez edilmiştir. Jelde oluşan DNA bantları jel dökümantasyon (Gel DocBioRad 2000) sistemi kullanılarak görüntülenmiştir.

3.2.2.4 PZR Polimorfizmi ve Genetik Farklılığın Belirlenmesi

Sekans dizilim analizi yapılması için PZR ürünleri Macrogen (Hollanda) firmasına gönderilmiştir. Sekans sonuçlarına ait baz dizileri BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak hizalanmıştır. Daha sonra rDNA-ITS gen bölgesi için GenBank’tan temin edilen referans sekans dizileri ve elde edilen sekans sonuçlarının mukayese edilmesinde ClustalW (Thompson ve ark., 1997) modülü kullanılmıştır. DNA Sequence Polymorphism (DnaSP 5.10) programı kullanılarak hizalanmış baz dizilerinin haplotipleri saptanmıştır. MEGA version 6 (Tamura ve ark., 2013) paket

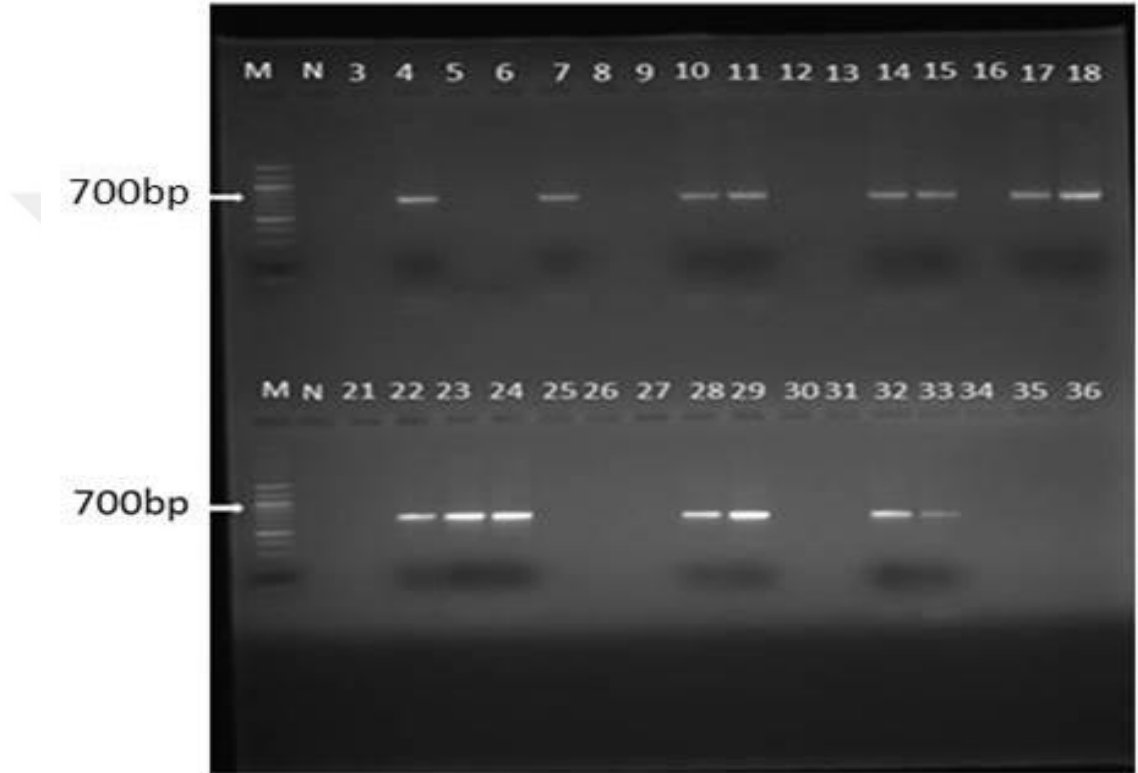
programını kullanarak, Neighbor-Joining (NJ; Saitou ve Nei, 1987), Maximum-Parsimony (MP; Eck ve Dayhoff, 1966; Fitch, 1977) ve Maximum-Likelihood (ML) algoritmalarından oluşan filogeni ağaçları (soy ağaçları) oluşturulmuştur. Seç bağla testi Bootstrap testi (Efron, 1982; Felsenstein, 1985) MP ve ML için 1000 tekrarla, NJ analizi için 10.000 tekrarla yapılmıştır. Elde edilen sekans dizilerinin nükleotit benzerlik oranları (%) ve evrimsel genetik uzaklıkları belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Moleküler Bulgular

Nükleer ribozomal DNA ITS analizlerinden elde edilen *Sicyos* spp.'nin jel görüntüsü (Şekil 4.1)'de verilmiştir. *Sicyos* spp.'nin DNA'larının ITS primerleri yardımıyla 600-700 bp arasında PZR ürünlerinin başarılı bir şekilde çoğaltıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Ordu ve Giresun İllerinden Toplanan *Sicyos* spp. Örneklerinin rDNA-ITS Gen Bölgesinin Agaroz Jel İçindeki Görüntüsü. Kuyucuk M: 100 bp ladder (New England Biolabs) Kuyucuk N: Negatif kontrol (steril su) ,Kuyucuk 4: CM2-DNA, Kuyucuk 7: U2-DNA, Kuyucuk 10: P2-DNA, Kuyucuk 11: B1-DNA, Kuyucuk 14: B4-DNA, Kuyucuk 15: K1-DNA, Kuyucuk 17: K3-DNA, Kuyucuk 18: K4-DNA, Kuyucuk 19: 100 bp ladder (New England Biolabs), Kuyucuk 20: Negatif kontrol (steril su), Kuyucuk 22: G2-DNA, Kuyucuk 23: D1-DNA, Kuyucuk 24: D2-DNA, Kuyucuk 28: F1-DNA, Kuyucuk 29: F2-DNA, Kuyucuk 32: CT2-DNA, Kuyucuk 33: CT3-DNA.

4.1.1 rDNA-ITS Geni ve Sekans Varyasyonu, Haplotip ve Nükleotit Özellikleri

Sicyos spp. örneklerine ait rDNA-ITS gen bölgesi ile (Çizelge 4.1)'de gösterilen gen bankasından alınan *Sicyos* spp. referans dizileri DNA Sequence Polymorphism (DnaSP 5.10) programı kullanılarak 2 farklı haplotip belirlenmiştir. (Çizelge 4.2)'de belirlenen haplotipler gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 *Sicyos* spp.'nin Genbank'tan Sağlanan Erişim Numaraları

Erişim No	Tür Adı
DQ005999	<i>Sicyos angulatus</i>
JN560230	<i>S. davilae</i>
JN560264	<i>S. peninsularis</i>
JN560217	<i>S. ampelophyllus</i>
JN560225	<i>S. barbatus</i>
JN560216	<i>S. albus</i>
JN560220	<i>S. anunu</i>
JN560237	<i>S. herbstii</i>
KX786100	<i>Luffa aegyptiaca</i>

Çizelge 4.2 *Sicyos* spp.'nin rDNA-ITS Gen Bölgesi Haplotipleri ve Örnek Sayıları

Haplotipler	Türler	Örnek Sayıları
Haplotip-1	<i>Sicyos davilae</i> Rodr.-Arév. & Lira	9 (B1,CM2, D1, D2, F1, G2, K3, K4,P2)
Haplotip-2	<i>Sicyos angulatus</i> L.	6 (B4, CT2, CT3, F2, K1, U2)

DnaSP 5.10 programında elde edilen Haplotip-1 tür baz dizilimi esas alınarak diğer haplotipler arasındaki nükleotit değişimleri (Çizelge 4.3)'de verilmiştir. Nükleotit değişimleri 179., 440., 582. ve 616. nükleotit pozisyonlarında olmuştur. Haplotip-1 582. nükleotit pozisyonu (Adenin nükleotiti) hariç diğer nükleotit pozisyonlarında

Sitozin nükleotidine sahiptir. Haplotip-2 de ise aynı nükleotit pozisyonlarında Adenin nükleotiti yerine Guanin nükleotiti, Sitozin nükleotiti yerine Timin nükleotidine sahiptir. Haplotip- 1; B1: Bulancak 1, CM2: Çamaş 2, D1: Dereli 1, D2: Dereli 2, F1: Fatsa 1, G2: Giresun 2, K3: Keşap 3, K4: Keşap 4, P2: Piraziz 2 isimli örnekler yer almaktadır. Haplotip-2 içinde; B4: Bulancak 4, CT2: Çatalpınar 2, CT3: Çatalpınar 3, F2: Fatsa 2, K1: Keşap 1, U2: Ulubey 2 isimli örnekler yer almaktadır.

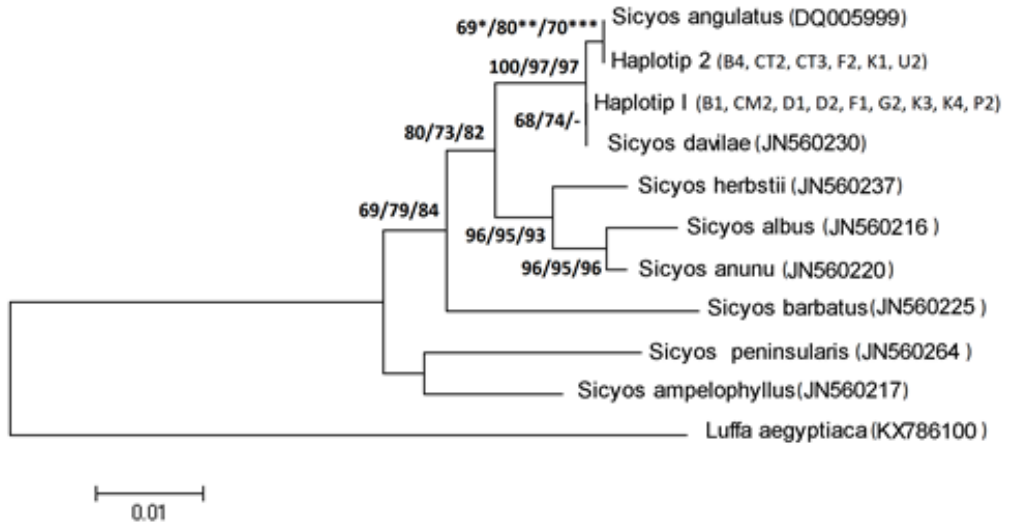
Çizelge 4.3 Haplotipler Arasında Nükleotit Farklılıkları (Koyu Yazılanlar Türe Özgü Nükleotit Pozisyonlarını Göstermektedir)

	1	4	5	6
	7	4	8	1
	9	0	2	6
Haplotip-1	C	C	A	C
Haplotip-2	T	T	G	T

4.2 *Sicyos* spp.'nin Filogenetik İlişki Ağacı

Haplotip-1 ve Haplotip-2 genotiplerinin *S. devilea* Rodr.-Arév. & Lira ve *S. angulatus* L. arasında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Haplotip-1, *S. devilea* türü ile % 100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir, Haplotip-2'nin ise *S. angulatus* L. türü ile % 100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen referans dizileri ve filogenetik ilişki (Çizelge 4.4) ve (Şekil 4.2)'de verilmiştir.

Haplotip- 1 (B1, CM2, D1, D2, F1, G2, K3, K4, P2) *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira ile sırasıyla % 68, % 74 ve % 0 (NJ/MP/ML), oranında ilişki saptanmıştır. Haplotip-2 (B4, CT2, CT3, F2, K1, U2) *S. angulatus* L. ile sırasıyla % 69, % 80, % 70 (NJ/MP/ML), oranında ilişki saptanmıştır. Haplotip-1 ile Haplotip-2 arasındaki benzerlik oranı ise % 80 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2 *Sicyos* Türleri Arasındaki Filogenetik İlişki Ağacı (*: Neighbor-Joining (NJ), **: Maximum-Parsimony (MP), ***: Maximum-Likelihood (ML))

Çizelge 4.4 Haplotipler Arasındaki DNA Dizilerinin Benzerlikleri (%) ve İkili Genetik Mesafeleri (Gri Gösterilen) ve Genbank'tan Sağlanan *Sicyos* spp.'nin Erişim Dizileri

	Haplotip-1	Haplotip-2	<i>Sicyos angulatus</i> (DQ005999)	<i>S. davilae</i> (JN560230)	<i>S. peninsularis</i> (JN560264)	<i>S. ampelophyllus</i> (JN560217)	<i>S. barbatus</i> (JN560225)	<i>S. albus</i> (JN560216)	<i>S. anunu</i> (JN560220)	<i>S. herbstii</i> (JN560237)	<i>Luffa aegyptiaca</i> (KX786100)
Haplotip-1	ID	0,805	0,805	1	0,699	0,96	0,957	0,973	0,978	0,977	0,676
Haplotip-2	0,0017	ID	1	0,805	0,856	0,772	0,765	0,781	0,785	0,784	0,778
<i>Sicyos angulatus</i> (DQ005999)	0,0017	0,0000	ID	0,805	0,856	0,772	0,765	0,781	0,785	0,784	0,778
<i>S. davilae</i> (JN560230)	0,0000	0,0017	0,0017	ID	0,699	0,96	0,957	0,973	0,978	0,977	0,676
<i>S. peninsularis</i> (JN560264)	0,0438	0,0456	0,0456	0,0438	ID	0,706	0,688	0,694	0,696	0,695	0,81
<i>S. ampelophyllus</i> (JN560217)	0,0347	0,0329	0,0329	0,0347	0,0331	ID	0,957	0,956	0,963	0,959	0,672
<i>S. barbatus</i> (JN560225)	0,0364	0,0382	0,0382	0,0364	0,0511	0,0401	ID	0,959	0,962	0,96	0,663
<i>S. albus</i> (JN560216)	0,0258	0,0275	0,0275	0,0258	0,0491	0,0510	0,0454	ID	0,992	0,984	0,673
<i>S. anunu</i> (560220)	0,0205	0,0223	0,0223	0,0205	0,0474	0,0419	0,0400	0,0085	ID	0,989	0,672
<i>S. herbstii</i> (JN560237)	0,0205	0,0223	0,0223	0,0205	0,0474	0,0455	0,0400	0,0188	0,0136	ID	0,672
<i>Luffa aegyptiaca</i> (KX786100)	0,1186	0,1207	0,1207	0,1186	0,1226	0,1164	0,1327	0,1201	0,1223	0,1202	ID

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yürütmüş olduğumuz çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan Ordu ve Giresun illerinden toplanan *Sicyos* spp'nin rDNA ITS gen bölgeleri analizi yapılarak moleküler filogenisi belirlenmiştir. 18S-26S rDNA ITS gen bölgeleri filogenetik sıralamada en fazla kullanılan yöntemdir. Çünkü, bu çalışmalarda kullanılan primerler evrenseldir ve daha hızlı ve kolay yollarla çoğaltılabilirler. *Sicyos* spp. örneklerinden 18S-26S rDNA-ITS gen bölgeleri yaklaşık olarak 600-700 bp civarında bant vererek çoğaltılmıştır.

rDNA ITS gen bölgelerinden PZR ürünleri elde edilmiş ve sekansları belirlenmiştir. Gen bankasından elde edilen *Sicyos* spp. sekansları ile elde etmiş olduğumuz sekanslar NJ, MP, ML algoritmaları hesaplanarak filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. Türkiye'deki illerden alıp incelediğimiz örneklerden 2 haplotip saptanmıştır. Bunlar; Haplotip-1 (B1, CM2, D1, D2, F1, G2, K3, K4, P2); Haplotip-2 (B4,CT2, CT3,F2,K1,U2). Bu haplotipler ile *Sicyos* türlerinin alt cins ilişkileri BLAST sonuçları kullanılarak ve veri seti oluşturularak belirlenmiştir. Haplotip-1 ve Haplotip-2, *Sicyos davilae* Rodr.-Arév. & Lira, *Sicyos angulatus* L. ve türleri ile. % 100 oranında benzerlik göstermektedir. Haplotip-1 ve Haplotip-2 arasındaki benzerlik oranı ise % 80 olarak saptanmıştır. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira türü ülke florası için yeni bir türdür.

Schaefer ve ark., (2009) 115 türün 114'ü ve 960 türün yüzde 25'i için bir multigene filogenisi kullanarak, bitkilerin en ekonomik öneme sahip ailelerinden biri olan Kabakgileagillerin tarihini ele almıştır. Dünya çapında örnekleme, 30 herberyumdan örnekler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan çıkan sonuçlar, Asya kökenli Kabakgiller olduğunu ve akabinde, Afrika, Amerika ve Avustralya kıtalarına transneanik uzun mesafe yayılımı (LDD) yoluyla tekrarlanan soy yayılmasını ortaya çıkarmıştır. Jobs ve ark., (1998) Farklı cinslere ait yirmi altı türün filogenetik ilişkilerini Cucurbitaceae familyası dizilerden tahmin edilmiştir. Tüm ITS bölgeleri PCR tekniği ile amplifiye edilmiştir. Filogenetik ilişkiler bazı türlerin ITS dizilerinden anlaşılmakta ve morfolojik verilerle uyumludur, fakat sapmalar taksonomik sınıflandırma da gözlenmiştir. Sonuç olarak Yeni Dünya türlerinin bir polifrotik kökeni dikkate alınmalıdır. Cucurbita cinsinden farklı bir türdeki ITS

dizilerinin "türleri" vardır, büyük olasılıkla yüksek introgresyon sıklığı nedeniyle poliploidizasyon olaylarından dolayı düşük intraspesifik değişkenlik tespit edilmiştir.

Uchida ve ark., (2012) 2006-2009 yılları arasında Japonya'da Tama Nehri yatağında bio-monitör yardımı ile yaptıkları gözlemlerinde nehir yataklarında istilacı bitkilerin birçok doğal türü baskıladığını ve bu türler içerisinde *S. angulatus*'un önemli istilacı yabancı otlarından biri olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *Miscanthus sacchari florus*'un *S. angulatus* kolonileri ile birlikte en sık (% 60.4) bulunan otsu tür olduğunu saptamışlardır.

Kurakawa ve ark., (2009) istilacı bitkileri kontrol etmek ve etkili prosedürlerin geliştirilmesi için, bitki genetik çeşitliliğinin anlaşılmasının önemli olabileceği yayılma mekanizmalarını öğrenmek gerektiğini dile getirmişlerdir. *S. angulatus*, Japonya'daki yem bitkileri ve doğal bitki örtüsü arasında yetişen yaygın ve istilacı bir yabancı ot olduğu belirtilmiştir. Basit bir sekans tekrarı (ISSR) genotiplemesi, *S. angulatus*'un Japonya'daki tanıtılmış bölgesel genetik varyasyon modellerini saptamak için kullanılmıştır. Bu araştırmanın amacı, Japonya'daki *S. angulatus*'un yayılma dinamiklerini ve yayılma mekanizmasını değerlendirilmesi olarak yapılmıştır. Dört adet ISSR primeri ile 15 güvenilir bant elde edilmiş ve bunların 12'si orta ve kuzeydoğu Japonya'da altı alan arasında polimorfik olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, aynı gen havuzlarından Japonya'nın hem orta hem de kuzey doğu bölgelerine çoklu girişler olduğu sonucuna varılmıştır.

Terzioğlu ve ark., (1999) *S. angulatus* için dağılım alanları ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. A7 Trabzon olarak: Yomra, A8 Trabzon Araklı, Of ve Çaykara'ya ek olarak A8 Artvin: Borçka daha önce belirlenmiştir. Detaylı morfolojik ölçümler sunulmuştur. Ayrıca, Cucurbitaceae cinsinin anahtarı İngilizce olarak sıralanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışma sonuçlarına bakarak *Sicyos* türlerinin Artvin, Trabzon'dan sonra Giresun ve Ordu illerinde yayıldıkları bilgisine ulaşılmıştır. Isabella ve ark., (2004) yürütmüş oldukları çalışmada Meksika'da iki yeni *Sicyos* türü saptamışlardır. Yapmış oldukları taksonomik çalışmalar sonucunda Guerrero eyaletinden alınan örneğin *S. cordifolius*'a, Oaxaca eyaletinden alınan örneğin ise, *S. bulbosus* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

Rodríguez-Arévalo, (2003) Meksika ve Guatemala eyaletlerinde yapmış olduğu çalışmada yeni bir *Sicyos* türü bulmuştur. Çalışmada toplanan *Sicyos* türleri 1400 ila 3800 m yükseklikteki alanlardan toplanmıştır ve yeni bulunan türün adı ise *S. lirae*'dir. Bu türün stigma loblarının şekli, yumurtalık ve meyve bakımından da *S. galeottii*'ye benzediğini de belirtmiştir. Rodríguez-Arévalo ve ark., (2004) yürütmüş oldukları bir başka çalışmada ise Meksika'da iki yeni *Sicyos* türü saptamışlardır. Yapmış oldukları taksonomik çalışmalar sonucunda Guerrero eyaletinden alınan örneğin *S. cordifolius*'a, Oaxaca eyaletinden alınan örneğin ise, *S. bulbosus* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

Ntuli ve ark., (2015) KwaZulu-Natal Eyaleti'nde bulunan üç ilçeden yedi adet *Cucurbita pepo* örnekleri toplamıştır ve polimorfik DNA (RAPD) ve basit sekans tekrarı (SSR) işaretleyicileri kullanılarak *Cucurbita pepo* çoğaltılmıştır. SSR belirteçleri toplam 56 allelin, 38'inin (% 68) polimorf olduğunu göstermiştir. Elde edilen veriler dahilinde Güney Afrika'nın kuzeyindeki KwaZulu-Natal adasındaki *C. pepo* topraklarında bol miktarda genetik çeşitlilik olduğunu göstermiştir. Telford ve ark., (2012) Avustralya ve Yeni Zelanda'da üç tür *Sicyos*'un varlığını saptamışlardır. Moleküler veriler bu üç türün *Sicyos undara* I.Telford & P. Sebastian, *S. mawhai* I. Telford & P. Sebastian ve *S. australis*' olduğunu göstermiştir. Ayrıca üç türe ait teşhis anahtarı ve yaşam alanları da araştırılmıştır.

Büyük türlerin alttürlerini sınıflandırma işlemi günümüzde hala sorun teşkil etmektedir. Kapsamlı olarak yürütülen moleküler çalışmalar *S. angulatus*'un altcinslerini belirlemede ve sistematik olarak yeniden tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada görüldüğü üzere rDNA-ITS *Sicyos* spp'nin alttaksonlarının moleküler farklılıkları saptanmasında ve potansiyel yeni türlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. rDNA-ITS gen bölgeleri *Sicyos* spp'nin altcinslerinde büyük ölçüde korunmuş olduğu için, incelenen bitki örneklerinin filogenetik yakınlıklarını temsil eden bölgeler çoğaltılabilir.

Bu çalışma ile Ordu ve Giresun illerinden alınan *Sicyos* türlerinin filogenetik ilişkisinin anlaşılması için rDNA ITS gen bazlı filogenetik analizi yapılmıştır.

Sonuç ve öneriler;

1. Karadeniz Bölgesi'nde tarım alanlarında, boş alanlarda ve yol kenarlarında sıkça rastlanan istilacı yabancı ot türlerinden biri olan *Sicyos* türleri ile ilgili bu konuda ülkemizde yapılan moleküler bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile *Sicyos* spp.'ye ait moleküler düzeyde ilk çalışma olması yönü ile özgün bir değere sahiptir.
2. Genetik karakterizasyon çalışmaları ile morfolojik benzerlikleri bakımından aynı tür olarak teşhis edilen türlerin gerçekte farklı türler olabilecekleri ortaya konabilir.
3. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira türü Türkiye florası için yeni bir türdür. Morfolojik ve anatomik özelliklerinin saptanarak bu tür ile ilgili bilgilerin desteklenmesi gereklidir.
4. Bu çalışma gelecekte *Sicyos* spp.'ye ile ilgili yapılacak moleküler filogenetik çalışmalara ışık tutacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Ali, M. A., & Al-Hemaid, F. M. A. (2010). Taxonomic significance of trichomes micromorphology in cucurbits. *saudi Journal of Biological Sciences* 18(1):87-91.
- Anonim, (2015). *Sicyos angulatus* L. <http://i-bil.com/tur.aspx?id=61> –(Erişim tarihi 27.07.2018).
- Anonim, (2016). Global threat to agriculture from invasive species. <https://www.csiro.au/en/News/News-releases/2016/Global-threat-to-agriculture-from-invasive-species> -(Erişim tarihi 29.05.2018).
- Anonim,(2018).Karadeniz bölgesi haritası.<https://www.frmtr.com/cografya/7039158-karadeniz-bolgesi-haritasi.html> -(Erişim tarihi 30.07.2018).
- Atalay, İ. (1994). Türkiye vejetasyon coğrafyası. Ege Üniversitesi basımevi, 230 s., İzmir.
- Curran, W.S., Dyer, W. E., & Maxwell, B. D. (2000). Examination of burcucumber (*Sicyos angulatus*) seed germination and dormancy. *Weed Sci. Soc. Am. Abstr.* 40:26–27.
- Çelik, S. (2003). *Centaurea* L. cinsi psephelloidea (boiss) sosn. seksiyonuna ait türlerin ekolojik özellikleri. doktora tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Eskişehir.
- Danquah, E. Y., Johnson, D. E., Riches, C., Arnold, G. M., & Karp, A. (2002). Genetic diversity in *echinocloa* spp. collected from different geographic origins and within rice fields in cote d'Ivoire. *weed research*, 42: 394–405.
- Delmiglio, C., & Pearson, M.N. (2006). Effect sand incidence of cucumber mosaic virus, watermelon mosaic virus and zucchini yellow mosaic virus in New Zealand's only native cucurbit, *Sicyos australis*. *Australasian Plant Pathology*, 35:29–35.
- Duman, H., & Güner, A. (1996). A New record for the flora of turkey, *Turkish Journal of Botany*, 20: 383–384.
- Eck, R.V., & Dayhoff, M.O. (1966). Atlas of protein sequence and structure. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring.
- Efron, B. (1982). The jackknife, the bootstrap and other resampling plans: CBMS-NSF MA, Monograph 38, Philadelphia (PA): SIAM.
- EPPO, (2010). Datasheet on invasive alien plants. *Sicyos angulatus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 40(3): 401-406.
- Esbenshade, W.R, Curran, W.S., Roth, G.W., Hartwig, N.L., & Orztek, M.D. (2001a). Effect of establishment date and crop competition on burcucumber fecundity. *Weed Science* 49:4.
- Esbenshade, W. R., W. S., Curran, G. W., Roth, N. L., Hartwig., M. D., & Orzolek, (2001b). Effect of tillage, row spacing, and herbicide on the emergence and control of Burcucumber (*Sicyos angulatus*) in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*. 15:229-235.

- Eserkaya-Güleç, T., Yıldırım, A., & Ateş-Sönmezoğlu, Ö. (2010). Bitkilerde markör destekli seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2): 67-79.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 39: 783-791.
- Filiz, E., & Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *göü, Ziraat Fakültesi Dergisi*. 28(2): 207-214.
- Fitch, W. (1977). On the problem of discovering the most parsimonious tree. *American Naturalist*. 111: 223-257.
- Güner, A., Akyıldırım, B., Alkayış, M.F., Çingay, B., Kanoğlu, S.S., Özkan, A.M., Öztekin, M., & Tuğ, G.N. (2012). Türkçe Bitki Adları. Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural M. ve Babaç, M.T. (edlr.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.
- Haymes, K.M. (1996). Mini-prep method suitable for a plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*, 14 (3): 280-284.
- Heywood, H.V., & Humphries, C.J. (1977). Anthemideae-systematic review. The Biology and Chemistry of the Compositae. Volum 2, (Chapter 31) Edit by Heywood, H.V., Harborne, J.B., Turner, B.L., Academic Press London.
- Hulina, N. (1996). Novi opasan korov u Hrvatskoj: *Sicyos angulatus* L. (Cucurbitaceae). — Poljop. znan. smotra Agriculturae Conspectus Scientificus 61: 259-264.
- Hoffmann, M.P., & Frodsham, A.C. (1993). Natural Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, Cornell University, Ithaca, NY. 63 pp.
- Holm, L., Doll, J., Holm, E., Pancho, J., & Herberger, J. (1996). Worlds weeds. Natural histories and distribution. John Wiley and Sons. Inc. Sayfa 70-79 U.S.A ISBN 0-471-04701-5.
- Jobst, J., King, K., & Hemleben, V. (1998). Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family cucurbitaceae. *Molecular phylogenetics and evolution* 1998 April, 9 (2): 204-219 Article No. Fy970465.
- Rodríguez-Arévalo, I., Lira, R., & Dávila, P. (2004). Two new species of *Sicyos* (Cucurbitaceae) from Guerrero and Oaxaca, Mexico The linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2004, 145: 373–378.
- Johnson, Q., & VanGessel, M. (2010). Burcucumber control in cropland. College of agriculture and natural resources, Weed Facts WF-4.
- Kasa, M. (1995). Karadeniz Bölgesi Meyve Fidanlıklarındaki Yabancı Otların Tespiti Üzerinde Araştırmalar. T.C. Tarım ve Köy İşleri Tarımsal Araştırmalar Gen. Müd. Bitki Koruma Araştırmaları Daire Baş. Zirai Müc. Araş. Yıllığı No: 26-27 (1991-1992).

- Kaul, V.K., Nigam, S.S., & Dhar, K.L. (1976). Antimicrobial activities of the essential oils of *Artemisia absinthium* Linn., *Artemisia vestita* Wall, and *Artemisia vulgaris* Linn. India. *Indian-Journal-of-Pharmacy*. 1976, 38:(1), 21-22. CAB Abstracts 1976-1978.
- Kim, Y.H., Noh, J.R., Hwang, J.H., Kim, K.S., Choi, D.H., An, J.P., Oh, W.K., & Lee, C.H. (2017). *Sicyos angulatus* ameliorates atherosclerosis through downregulation of aortic inflammatory responses in apolipoprotein E-deficient mice. *The National Center for Biotechnology Information* 2017 Dec; 14(6): 5863–5870.
- Kil, J.H., Kong, H.Y., Koh, K.S., & Kim, J.M. (2006). Management of *Sicyos angulata* spread in Korea. In: Neobiota. From ecology to conservation. 4th european conference on biological invasions. Vienna (Austria), 27.09-29.09.2006, BfN-Skripten 184, 170.
- Kobayashi, H., Kurokawa, S., & Ikeda, K. (2012). Dairyland populations of bur cucumber (*Sicyos angulatus*) as a possible seed source for riverbank populations along the Abukuma River. *Japan. Weed Biology and Management* 12: 147–155.
- Koçyan, A., Zhang, L., Schaefer, H., & Renner, S.S. (2007). A multi-locus chloroplast phylogeny for the Cucurbitaceae and its implications for character evolution and classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44 (2007) 553–577.
- Koloren, O., Koloren, Z., & Eker, S. (2016). Molecular phylogeny of *Artemisia* species based on the internal transcribed spacer (ITS) of 18S-26S rDNA in Ordu Province of Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. DOI: 10.1080/13102818.2016. 1188674.
- Korkmaz, F., Karaca, K., Özaslan, C., Yanar, Y., & Önen, H. (2016). Karpuz Mozaik Virüsü (WMV - 2)'nün Doğal Konukçusu *Sicyos angulatus*. *Turkish Journal of Weed Science* 19(1): 15-17.
- Kurokawa, S., H, Kobayashi., & Senda, T. (2009). Genetic diversity of *Sicyos angulatus* in central and northeastern Japan by inter-simple sequence repeat analysis. *Weed Research* 49: 365–372.
- Lee, I.Y., Oh, S.M., Moon, B.C., & Kim, C.S. (2007). Weeding effect of troublesome exotic weeds, *Sicyos angulatus* and *Amaranthus spinosus*, by several herbicides international information system for the Agricultural Science And Technology.2007.
- Lima, L. F., & Miotto, S. T. S. (2011). Pollen morphology of cyclanthera and *Sicyos* species (Cucurbitaceae,Sicyoeae). *Darwiniana* 49(1): 7-15. 2011.
- Liu, B.H. (1998). Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press LLC, Boca Raton New York.
- Mann, R., Rieck, K. C. E., & Witt, W. W. (1981). Germination and emergence of burcucumber (*Sicyos angulatus*). *Weed Science* 29:83–86.

- Medley, M., & Burnham, R. (2013). *Sicyos angulatus* L. Plant diversity website. <http://climbers.lsa.umich.edu/wpcontent/uploads/2013/07/SicyanguCUCUFINAL.Pdf>
- Messersmith, D.T., Curran, W.S., Harrwig, N.L., Orzolek, M.D., & Roth, G.W. (1999). Evaluation of several herbicides for bur cucumber (*Sicyos angulatus*) control in corn (*Zea mays*). *Weed Technology* 13: 520-524.
- Messersmith, D.T., Curran, W.S., Roth, G.W., Harrwig, N.L., & Orzolek, M.D. (2000). Tillage and herbicides affect bur cucumber management in corn. *Agronomy Journal* 92:181-185.
- Moon, B.C., Lee, I.Y., Oh, S.M., & Kim, S.C. (2008). Change of weed species in burcucumber (*Sicyos angulatus* L.) Community and domestic distribution aspect. *Korean Journal of Weed Science* 2008, pp.117-125.
- Moerman, D. (1998). *Native American Ethnobotany*, Portland, Timber Press, USA.
- Ntuli, N.R., Tongoona, P.B., & Zobolo, A.M. (2015). Genetic diversity in Cucurbita pepo landraces revealed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae* 189 :192–200.
- Orman ve Su İşleri Bakanlığı, (2014). Artvin, Giresun, Rize, Trabzon İlleri İt dolanbacı (*Sicyos angulatus* L.) Tür Mücadele Eylem Planı sonuç raporu <http://www.milliparklar.gov.tr/yabanhayati/turkorumasube/ItDolanbac%C4%B1web.pdf>
- Osawa, T., Okawa, S., Kurokawa, S., & Ando, S. (2016). Generating an agricultural risk map based on limited ecological information: A case study *Sincyos angulatus*, *Ambio*, 45, 8, (895).
- Qu, X., Baskın, J. M., & Baskın, C. C. (2010). Whole-seed development in *Sicyos angulatus* (Cucurbitaceae, Sicyeae) and a comparison with that of water-impermeable seeds in five other families. *Plant Species Biology* 25: 185–192.
- Önen, H., Özaslan, C., Günal, H., Akyol, N., & Caldıran, U. (2013). Expansion status of two invasive vines. Bur-cucumber and Mile-a-Minute in Turkey. 4th Esenias Workshop. International Workshop on IAS in Agricultural and NonAgricultural Areas in ESENİAS Region. 16-17 December 2013 Çanakkale, Turkey.
- Özşensoy, Y., & Kurar, E. (2012). Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımı. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10(2):11-19, 2012.
- Parmaksız, İ. (2004). Papaver cinsi oxytona seksiyonunun Türkiye’ de yetişen türlerinde genetik çeşitliliğin RAPD markörleri ile analizi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Rodríguez-Arevalo, I., Lira, R., & Davila, P. (2004). Two new species of *Sicyos* (Cucurbitaceae) from Guerrero and Oaxaca, Mexico. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 145 (3): 373-378.
- Rodríguez-Arevalo, I. (2003). A new species of *Sicyos* (Cucurbitaceae, Sicyoeae, Sicyinae) from Mexico and Guatemala. *Brittonia*, 55: 69–72.

- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*. 4: 406-425.
- Schaefer, H., Heibl, C., & Renner, S. (2009). Gourds afloat: a dated phylogeny reveals an Asian origin of the gourd family (Cucurbitaceae) and numerous oversea dispersal events. *Biological Sciences* Published 7 March 2009. DOI: 10.1098/rspb.2008.144.
- Shimizu, N. (1999). The level of damage by the foreign weed *Sicyos angulatus*. *Weed Science Society of Japan* 2: 2–3.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*. 30: 2725-2729.
- Tanaka, T. (1976). *Tanaka's Cyclopaedia of Edible Plants of the World*, Yugaku-sha
- Telford, H. R. L., Sebastian, P., Lange, P.J., Bruhl, J.J., & Renner, S. S. (2012). Morphological and molecular data reveal three rather than one species of *Sicyos* (Cucurbitaceae) in Australia, New Zealand and Islands of the South West Pacific. *Australian Systematic Botany*, 2012, 25: 188–201
- Terzioğlu, S., & Anşın, R. (1999). Türkiye'nin egzotik bitkilerine bir katkı: *S. angulatus* L. *Turkish J of Agriculture and Forestry* 23: 359–362
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D.G. (1997). The ClustalX-Window interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25: 4876-4882.
- TÜBİVES, (2014). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. <http://www.tubives.com/index.php?sayfa=karsilastir>.
- Tzonev, R. (2005). *Sicyos angulatus*: a new species for Bulgaria. *Phytologia Balcanica* 11 (1): 67–68.
- Uchida, T., Nomura, R., Asaeda, T., & Rashid, H. (2012). Co-existence of *Sicyos angulatus* and native plant species in the floodplain of Tama River, Japan *International Journal of Biodiversity and Conservation* 4(9), pp. 336-347.
- Varma, A., Padh, H., & Shrivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: An art or a science. *Biotechnol. Journal*, 2: 386–392.
- Villa-Rodriguez, S. (2012). Reproductive biology and floral phenology of *Sicyos Deppei* G. Don (Cucurbitaceae) In disturbed areas in the city of san andres cholula, Puebla, Mexico. *Environmental sciences guelph*, Ontario, Canada.
- Williams, C.E., & Ronald, P.C. (1994). PCR template-DNA isolated quickly from monocot and dicot leaves without tissue homogenization. *Nucleic Acids Res.* 1994, 22: 1917–1918.
- Xiaoxia, Q.u., Jerry, Carol, C., & Baskın, M. (2011). Combinational dormancy in seeds of *Sicyos angulatus* (Cucurbitaceae, tribe Sicyeae), *Plant Species Biology*, 27, 2: 119-123.



EKLER

EK 1.

1. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar

1.1. Ethanol-Asetat (pH: 5.2)

Bu çözelti DNA ekstraksiyon aşamasında kullanılmaktadır. Çözelti maddeleri için 3 M NaAc'dan 24.61 gr tartılmıştır. 70 ml ethanol ile eritilerek pH: 5.2'ye ayarlanmıştır.

1.2. Extraction Buffer (pH: 8)

Bu çözelti DNA ekstraksiyon aşamasında kullanılmaktadır. Çözelti maddeleri için 100 mM TrisHCl'den 1.58 gr tartılmıştır. 1.4 M NaCl'den 8.182 gr tartılmıştır. 20 mM EDTA'dan 0.745 gr tartılmıştır. % 2'lik CTAB'dan 2 gr tartılmıştır. Bütün kimyasallar tartıldıktan sonra yaklaşık 12.507 gr çözelti 50 ml saf su ile çözdürülmüştür. Sonrasında % 4'lük B-mercaptaetanol'den 0.4 ml alınarak 50 ml'lik saf su ile çözdürülen karışıma eklenmiştir. pH:8'e ayarlanmıştır.

1.3. Chloroform-İsoamilalkol (24: 1)

Bu çözelti DNA ekstraksiyon aşamasında kullanılmaktadır. Çözelti maddeleri için 24 ml Chloroform ile 1 ml İsoamil alkol birleştirilmiştir.

1.4. TAE Buffer

PZR ürünlerinin elektroforezinde kullanılmaktadır. Çözelti maddeleri için 0.04 M Tris-acetate ve 1 mM EDTA, pH:8'e ayarlanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Berna Nur YEŞİLTAAŞ

Doğum Yeri : ÇAMAŞ/ORDU

Doğum Tarihi : 14.04.1993

Yabancı Dili : İngilizce

E-mail : bernanuriesiltas@gmail.com

İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü-
ORDU

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Bitki Koruma Bölümü	Ordu Üniversitesi	2012-2016
Y. Lisans	Bitki Koruma Bölümü	Ordu Üniversitesi	2016-2018