



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

**TÜRKİYE *STACHYS* L. CİNSİ *SETIFOLIA* VE
STACHYS SEKSİYONLARI ÜZERİNE
FİLOGENETİK VE MİKROMORFOLOJİK
BİR ÇALIŞMA**

Zehra ALTINDAŞ PINAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalını

**Ekim-2024
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Zehra ALTINDAŞ PINAR tarafından hazırlanan “Türkiye *Stachys* L. Cinsi *Setifolia* ve *Stachys* Seksiyonları Üzerine Filogenetik ve Mikromorfolojik Bir Çalışma” adlı tez çalışması 25/09/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Deniz AYGÖREN ULUER

.....

Danışman

Doç. Dr. Özlem ÇETİN

.....

Üye

Dr. Öğr. Ü. Pembegül UYAR ARPACI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr.

FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü tarafından 23201024 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Zehra ALTINDAŞ PINAR

Tarih: 24/10/2024

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

TÜRKİYE *STACHYS* L. CİNSİ *SETIFOLIA* VE *STACHYS* SEKSİYONLARI ÜZERİNE FİLOGENETİK VE MİKROMORFOLOJİK BİR ÇALIŞMA

Zehra ALTINDAŞ PINAR

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem ÇETİN

2024, 83 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Özlem ÇETİN

Doç. Dr. Deniz AYGÖREN ULUER

Dr. Öğr. Ü. Pembegül UYAR ARPACI

Stachys L. cinsi Lamiaceae familyasının en geniş cinslerinden birisidir. Cins dünya genelinde yaklaşık 370 tür ile temsil edilmektedir ve geniş bir yayılış göstermektedir. *Stachys* cinsi ülkemizde ise 97 tür, 125 takson ile temsil edilmekte olup 69 taksonu ülkemiz için endemiktir. Türkiye bu cinsin önemli gen merkezleri arasındadır. *Stachys* cinsinin birçok türü etnobotanik özellikleri açısından çok önemli olup halk ilacı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. *Stachys* cinsi halk arasında ‘Deliçay, Ketençayı, Gevrek ısırgan, Çayçe, Mayasilotu, Boncuk şalba, Köprülüçay, Soğulcan, Kalınkarabaş, Tokalı çay, Kumçayçesi, Dağçayçesi, Arapdeliçayı, Sümbülçayı, Haciosmanotu’ gibi yöresel isimlerle bilinen türlere sahiptir.

Bu çalışma ile *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan türlerin kloroplast DNA *trnL*-F ve *matK* bölgeleri dizilenmiştir. Bu aday DNA barkod bölgelerinin sekansları değerlendirilerek türleri tanımlamak için kullanılacak türlere özgü nükleotid dizileri ortaya konulmuştur. Ayrıca *trnL*-F ve *matK* bölgelerine dayalı türlerin filogenetik ilişkisini gösteren dendogramlar oluşturulmuştur.

Bu çalışmada *Setifolia* seksiyonu (*S. setifera* subsp. *setifera*, *Stachys setifera* subsp. *lycia*, *Stachys menthoides* Kotschy & Boiss. ve *S. willemsei* Kit Tan & Hedge) ve *Stachys* seksiyonu (*S. sylvatica* L., *S. palustris* L.) taksonlarının herbaryum örnekleri kullanılmıştır. DNA izolasyonları, Qiagen DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. Çalışılan türlerde *trnL*-F bölgesi *trnc*-F ve *trnf*-R primerleri ile *matK* bölgesi ise *matK*-R ve *matK*-F primerleri ile çoğaltılmıştır. PCR ürünleri dizi analizi için özel bir firmaya gönderilmiştir. DNA dizilerinin işlenmesi ve hizalanması için Bioedit programı kullanılmıştır. Cins içerisindeki filogenetik ilişkiler Maksimum Parsimoni (MP) ve Bayesian Inference (BI) yöntemleri ile değerlendirilmiştir. MP analizi PAUP*v.4.0b10 programında, BI analizi ise Mr Bayes 3.2.7 programında yapılmıştır.

Setifolia ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan türlerin *trnL*-F bölgesinin uzunluğunun 720 baz çifti (bç) olduğu görülmüştür ve *matK* bölgesinin uzunluğunun da 780 ile 790 bç arasında değiştiği görülmüştür. Tez projesi kapsamında *matK* gen bölgesi ve *trnL*-F dizileri kullanılarak MP ve BI yöntemleri ile filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. *trnL*-F dizilerine dayalı olarak oluşturulan filogenetik ağaçlarda *Stachys* cinsinin monofiletik olmadığı doğrulanmıştır. Ancak *Stachys* cinsi *Setifolia* seksiyonunda yer alan türler monofiletik bir grup oluşturmuştur. *Stachys* cinsi *Stachys* seksiyonunda yer alan *S. sylvatica* ve *S. palustris* türleri ise *Stachys albens* A.Gray, *S. pilosa* Nutt., *S. tenuifolia* Willd., *S. latidens* Small., and *Suzukia luchuensis* Kudô. türleri ile bir grup oluşturmuştur.

Ayrıca bu tez çalışması kapsamında *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan türlerin gövde, yaprak ve kaliks tüy özellikleri incelenmiştir. Bu seksiyonlarda salgısız ve salgılı tüyler görülmektedir. Salgısız tüyler basit çoğunlukla 2-çok hücreli, nadiren tek hücreli tüylerdir. Salgı tüyleri uzun saplı kapitat tüylerdir. Nadiren kısa saplı kapitat tüylerde görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: DNA, Filogeni, Lamiaceae, *matK*, Morfoloji, *Stachys*, *Setifolia*, *trnL-F*



ABSTRACT

MS

A PHYLOGENETIC AND MICROMORPHOLOGICAL STUDY on the GENUS STACHYS L. SECTIONS SETIFOLIA AND STACHYS in TÜRKİYE

Zehra ALTINDAŞ PINAR

The Graduate School of Natural And Applied Science of Selcuk University
The Degree of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Özlem ÇETİN

2024, 83 Pages

Jury
Assoc. Prof. Özlem ÇETİN
Assoc. Prof. Deniz AYGÖREN ULUER
Assist. Prof. Pembegül UYAR ARPACI

The genus *Stachys* L. is one of the largest genera in the Lamiaceae family. It is represented by approximately 370 species worldwide and has a wide distribution. In Turkey, the *Stachys* genus is represented by 97 species and 125 taxa, of which 69 are endemic to the country. Turkey is considered one of the important gene centers for this genus. Many species of *Stachys* are significant in terms of ethnobotanical properties and are commonly used as folk medicine. The *Stachys* genus includes species known locally by names such as "Deliçay, Ketençayı, Gevrek ısırgan, Çayçe, Mayasilotu, Boncuk şalba, Köprülüçay, Soğulcan, Kalınkarabaş, Tokalı çay, Kumçayçesi, Dağçayçesi, Arapdeliçayı, Sümbülçayı, Haciosmanotu."

In this study, the chloroplast DNA (cpDNA) regions *trnL-F* and *matK* of sections *Setifolia* and *Stachys* have been sequenced. By evaluating the sequences of these candidate DNA barcode regions, species-specific nucleotide sequences have been identified for the purpose of species identification. Additionally, dendrograms have been created to illustrate the phylogenetic relationships of the species based on the *trnL-F* and *matK* regions.

In this study, herbarium specimens of taxa from the *Setifolia* section (*S. setifera* subsp. *setifera*, *Stachys setifera* subsp. *lycia*, *Stachys menthoides* Kotschy & Boiss., and *S. willemsei* Kit Tan & Hedge) and the *Stachys* section (*S. sylvatica* L. and *S. palustris* L.) were used. DNA isolations were performed using the Qiagen DNA isolation kit. The *trnL-F* region was amplified using the *trnC-F* and *trnF-R* primers, while the *matK* region was amplified using the *matK-R* and *matK-F* primers. The PCR products were sent to a specialized company for sequence analysis. BioEdit software was used for processing and aligning the DNA sequences. Phylogenetic relationships within the genus were evaluated using Maximum Parsimony (MP) and Bayesian Inference (BI) methods. MP analysis was conducted using the PAUP*v.4.0b10 program, while BI analysis was performed using MrBayes 3.2.7.

It was found that the length of the *trnL-F* region in the species of the *Setifolia* and *Stachys* sections is 720 base pairs (bp), while the length of the *matK* region varies between 780 and 790 bp. Phylogenetic trees were constructed using the *matK* gene region and *trnL-F* sequences with MP and BI methods as part of the thesis project. The phylogenetic trees based on *trnL-F* sequences confirmed that the *Stachys* genus is not monophyletic. However, the species within the *Setifolia* section of the *Stachys* genus formed a monophyletic group. The species *S. sylvatica* and *S. palustris* from the *Stachys* section grouped together with *Stachys albens* A.Gray, *S. pilosa* Nutt., *S. tenuifolia* Willd., *S. latidens* Small., and *Suzukia luchuensis* Kudô.

Additionally, in this thesis study, the hair characteristics of the stems, leaves, and calyx of the species in the *Setifolia* and *Stachys* sections were examined. Both non-glandular and glandular hairs were observed in these sections. Non-glandular hairs are mostly simple, typically 2- to multicellular, and rarely unicellular. Glandular hairs are long-stalked capitate hairs, with short-stalked capitate hairs being seen rarely.

Keywords: DNA, Lamiaceae, *matK*, Morphology, Phylogeny, *Stachys*, *Setifolia*, *trnL-F*



ÖNSÖZ

Bu tezin tamamlanmasında katkıda bulunan ve destek olan herkese teşekkürlerimi sunarım. Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tezimi yazarken bilgi ve deneyimlerini, rehberliğini esigemeyerek her zaman yanımda olup yol gösteren, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum çok değerli danışman hocam Doç.Dr. Özlem ÇETİN'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bana her konuda destek olan değerli hocam, Öğr. Gör. Dr. Mustafa ÇELİK'e, bana yardımcı olan her zaman yol gösteren, arkadaşım Hamdiye Alatlı'ya

Tezimde kullandığım örnekleri teşhis ve toplanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Ekrem AKÇİÇEK, Prof. Dr. Tuncay Dirmenci ve Doç.Dr. Özal GÜNER'e

Çalışmamız için maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olup her zaman destekleyen canım annem Zarife ALTINDAŞ başta olmak üzere canım babam Halil ALTINDAŞ, ablam Derya ALTINDAŞ ve abim Ramazan ALTINDAŞ'a bana olan tüm destekleri için çok teşekkür ederim. Eşim, hayat arkadaşım Murat PINAR'a her zaman yanımda olup beni desteklediği için çok teşekkür ederim. Sizlerin desteği olmasaydı bu tezi tamamlamak kolay olmazdı.

Son olarak bu süreçte desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Saygılarımla,

Zehra ALTINDAŞ PINAR

KONYA-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Lamiaceae (Labiatae/ Nanegiller) Familyasının Morfolojik Özellikleri	4
2.2. Lamiaceae Familyası Hakkında Genel Bilgiler	4
2.3. <i>Stachys</i> Cinsi	6
2.4. <i>Stachys</i> Cinsi Üzerine Yapılan Sitogenetik Çalışmalar	8
2.5. <i>Stachys</i> Cinsi Üzerine Yapılan Filogenetik Çalışmalar	9
2.6. <i>Stachys</i> Cinsi Üzerine Yapılan Mikromorfolojik Çalışmalar	11
2.7. Kloroplast Genomu	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Filogenetik ve Mikromorfolojik Çalışmalarda Kullanılan Örnekler	17
3.2. Mikromorfolojik Çalışmalar	18
3.3. Filogenetik Çalışmalar	18
3.3.1. Total DNA İzolasyonu	18
3.3.2. PCR Çalışmaları	20
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi	21
3.3.4. Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi	22
3.3.5. Dizi Analizi	22
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	24
4.1. Morfolojik Sonuçlar	24
4.1.1. <i>Stachys palustris</i> L.	24
4.1.2. <i>Stachys sylvatica</i> L.	25
4.1.3. <i>Stachys menthoides</i> Kotschy & Boiss.	26
4.1.4. <i>Stachys setifera</i> C.A.Mey.	26
4.2. Mikromorfolojik Sonuçlar	28
4.2.1. <i>Stachys palustris</i> L.	28
4.2.2. <i>Stachys sylvatica</i> L.	29
4.2.3. <i>Stachys menthoides</i> Kotschy & Boiss.	30
4.2.4. <i>Stachys setifera</i> C.A.Mey.	32
4.3. Moleküler Sonuçlar	35
4.3.1. <i>Stachys</i> cinsi <i>Setifolia</i> ve <i>Stachys</i> seksiyonlarında yer alan taksonların <i>trnL-F</i> dizilerinin filogenetik analizi	35

4.3.2. <i>Stachys</i> cinsi <i>Setifolia</i> ve <i>Stachys</i> seksiyonlarında yer alan taksonların <i>matK</i> dizilerinin filogenetik analizi	42
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	52
5.1. Sonuçlar	52
EKLER	59
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
n	: Temel kromozom sayısı
∞	: Sonsuz
%	: Yüzde

Kısaltmalar

µl	: Mikrolitre
bç	: Baz Çifti
cm	: Santimetre
cpDNA	: Kloroplast DNA
CTAB	: Cetyltrimethyl Ammonium Bromide
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNase	: Deoksiribonuklease
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
g	: Gram
ITS	: İç transkribe boşluklar
IGS	: Intergenic spacer (intergenik aralık)
L	: Litre
m	: Metre
matK	: Maturase K
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmol	: Milimol
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
nrDNA	: Nüklear ribosomal DNA
PAUP	: Phylogenetic Analysis Using
rbcL	: RuBisCO
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RI	: Retention indeks
RNase	: Ribonükleaz
rpm	: Dakikada Döngü Sayısı (Revolutions per minute)
sn	: Saniye
subsp.	: Alttür
TBE	: Tris borate EDTA
tRNA	: Taşıyıcı ribonukleik asit
trnL-F	: Taşıyıcı RNA
UV	: Ultraviyole ışık

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Kloroplast genomu şeması (www.biorender.com programında düzenlendi).	15
Şekil 3. 1. DNA izolasyon basamaklarının şematik olarak gösterilmesi (www.biorender.com programında düzenlendi)	19
Şekil 3. 2. Jel elektroforezi yapım aşamalarının şematik gösterimi (www.biorender.com programında düzenlendi)	21
Şekil 3. 3. Agoraz jelde yürütülen DNA'ların görüntüsü (Foto:Z. Altındaş Pınar).....	22
Şekil 3. 4. Dizi barkodlama şeması (www.biorender.com programında düzenlendi)	22
Şekil 4. 1. <i>Stachys palustris</i> L. (Gölisırganı) (Foto: Ö.Güner)	24
Şekil 4. 2. <i>Stachys sylvatica</i> L. (Hamısırğan) (Foto: E. Akçiçek)	25
Şekil 4. 3. <i>Stachys menthoides</i> Kotschy& Boiss. (Nanelisi)(Foto:Ö.Güner).....	26
Şekil 4. 4. <i>Stachys setifera</i> subsp. <i>setifera</i> C.A.Mey. (İnce Deliçay) (Foto: E. Akçiçek)	27
Şekil 4. 5. <i>Stachys setifera</i> subsp. <i>lycia</i> (Gand.) R. Bhattacharjee (Zarif Deliçay) (Foto:Ö.Güner).....	27
Şekil 4. 6. <i>Stachys palustris</i> yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)tüy görünümü	28
Şekil 4. 7. <i>Stachys palustris</i> kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü.....	28
Şekil 4. 8. <i>Stachys palustris</i> gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü.....	29
Şekil 4. 9. <i>Stachys sylvatica</i> yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü.....	29
Şekil 4. 10. <i>Stachys sylvatica</i> kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüy	30
Şekil 4. 11. <i>Stachys sylvatica</i> gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü	30
Şekil 4. 12. <i>Stachys menthoides</i> yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü.....	31
Şekil 4. 13. <i>Stachys menthoides</i> kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü	31
Şekil 4. 14. <i>Stachys menthoides</i> gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü.....	31
Şekil 4. 15. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>lycia</i> yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü	32
Şekil 4. 16. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>lycia</i> kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü.....	32
Şekil 4. 17. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>lycia</i> gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü.....	33
Şekil 4. 18. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>setifera</i> yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü	33
Şekil 4. 19. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>setifera</i> kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü.....	33
Şekil 4. 20. <i>Stachys setifera</i> subps. <i>setifera</i> gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü.....	34
Şekil 4. 21. Bioedit programındaki <i>trnL-F</i> dizileri	35
Şekil 4. 22. Bioedit programında düzenlenen <i>trnL-F</i> bölgesinin DNA dizileri	36

Şekil 4. 23. <i>Stachys</i> ve <i>Setifolia</i> taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Bayesian ağacı.....	38
Şekil 4. 24. <i>Stachys</i> ve <i>Setifolia</i> taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Maksimum Parsimony ağacı.....	39
Şekil 4. 25. Bioedit programındaki <i>matK</i> gen bölgesinin dizileri	42
Şekil 4. 26. Bioedit programında düzenlenen <i>matK</i> bölgesinin DNA dizileri	43
Şekil 4. 27. <i>Stachys</i> ve <i>Setifolia</i> taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Bayesian ağacı.....	45
Şekil 4. 28. <i>Stachys</i> ve <i>Setifolia</i> taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Maksimum Parsimony ağacı.....	46

Şekil 5. 1. <i>Stachys palustris</i> ve <i>S. sylvatica</i> türlerinin <i>trnL-F</i> ve <i>matK</i> dizilerinin NCBI programı ile karşılaştırılması	53
---	----



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 3.1. Moleküler çalışmalarda kullanılan <i>Stachys</i> türlerinin lokaliteleri.....	17
Çizelge 3.2. PCR karışımında kullanılan bileşenler ve miktarları.....	20
Çizelge 3.3. Primer dizileri.....	20
Çizelge 3.4. PCR çalışmalarının yürütülmesi için kullanılan program (<i>trnL-F</i> ve <i>matK</i> primerleri için)	20
Çizelge 4. 1. <i>Stachys</i> Cinsi <i>Setifolia</i> ve <i>Stachys</i> seksiyonlarında yer alan taksonların <i>trnL-F</i> bölgesinin % nükleotid içeriği	37
Çizelge 4. 2. <i>Stachys</i> cinsi <i>Setifolia</i> ve <i>Stachys</i> seksiyonlarındaki taksonların <i>matK</i> bölgesinin % nükleotid içeriği	43

1. GİRİŞ

Kozmopolit bir yayılış gösteren Lamiaceae familyası, dünya genelinde 245'ten fazla cins, 7886 tür içermektedir ve Angiosperm familyaları arasında altıncı sırada yer almaktadır (Celep ve Dirmenci, 2017).

Lamiaceae, Türkiye'de ise takson sayısına göre üçüncü, tür sayısına göre dördüncü en büyük familyadır (Celep ve Dirmenci, 2017). Ülkemizde bu familya 48 cins ve 782 takson (603 tür, 179 alt tür ve varyete) ile temsil edilmektedir (Celep ve Dirmenci, 2017). 346 takson (271 tür, 75 alt tür ve varyete) ülkemiz için endemiktir (Celep ve Dirmenci, 2017).

Lamiaceae familyası, 4 köşe gövdeli, karşılıklı yapraklı [ya da dairesel], çiçeklenme durumunun vertisillat ya da tirse [bazı türlerde koltuklarda tek çiçekli], çiçeklerin zigomorf [nadiren aktinomorf], bilabiata, genellikle üst durumlu ovaryumlu; derin 4 loblu, ginobazik stiluslu; genellikle 4 nutletli şizokarp, üzüksü ya da drupa meyveli aromatik eterik yağlı otsu bitkiler ya da çalılardan olması ile ayırt edilirler. K (5) C (5) [(4)] A 4 ya da 2 [+2 staminodlu] G (2) üst durumlu ovaryumludur (Simpson ve ark., 2012).

Lamiaceae familyasında yer alan türlerin birçoğu, tarih boyunca yoğun bir şekilde kullanılmıştır. Örneğin, eski kayıtlara göre, hatırlamanın otu olarak bilinen *Rosmarinus officinalis* L. türünün hafızayı güçlendirmek, kaygı ve depresyonu azaltmak ve uyku kalitesini iyileştirmek için kullanıldığı bilinmektedir (Çatak ve Atalay, 2022). Bu familyada yer alan türler biyoaktif bileşik olarak çeşitli ekdisterooidler, iridoidler, flavonoidler, terpenoidler, fenolikler ve ayrıca farklı antibakteriyel, antifungal, sitotoksik ve antioksidan aktivite gösteren alkaloidleri içermektedir (Mamadaliyeva ve ark., 2019; Çatak ve Atalay, 2022). Tıbbi ve ekonomik öneme sahip olan bu familyanın, tıbbi amaçlı gıda bitkileri olarak en yaygın yetiştirilen cinsleri arasında *Mentha* L. (nane) ve *Thymus* L. (kekik) gelmektedir. *Lavandula* L. (lavanta) ve *Pogostemon* Desf. güzel kokusundan dolayı, *Stachys affinis* Fresen. (çin enginarı) türü ise yiyecek olarak kullanılmasından dolayı en çok yetiştirilen bitkiler arasında yer almaktadır (İpek, 2018). Ayrıca birçok türünün de süs bitkisi olarak kullanılması familyanın tıbbi ve ekonomik değerini artırmaktadır (İpek, 2018; Çatak ve Atalay, 2022).

Lamiaceae familyasının en büyük cinsleri arasında *Salvia* L. (900), *Scutellaria* L. (360), *Stachys* L. (300), *Plectranthus* L'Hér. (300), *Hyptis* Jacq. (280), *Thymus* L. (220) ve *Nepeta* L. (200) yer almaktadır (Tamokou ve ark., 2017; Çatak ve Atalay, 2022).

Stachys L. Akdeniz, Asya, Amerika ve Güney Afrika'nın ılıman ve tropik bölgelerinde yayılış göstermektedir. Dünya genelinde yaklaşık 370 tür içermektedir (Sadeghi ve ark., 2022). *Stachys* cinsi ülkemizde 97 tür (125 takson) ile temsil edilmekte olup 69 tür ülkemiz için endemiktir (Akçiçek, 2012; Güner ve Aslan, 2012; Dündar ve ark., 2013; Güner ve Akçiçek, 2015; Akcicek ve ark., 2016; Akcicek, 2020; Güner ve ark., 2021; Akcicek ve Güner, 2022; Güner ve Akçiçek, 2022). Ülkemiz *Stachys* cinsinin ana çeşitlilik merkezlerinden birisidir (Güner, 2016) .

Stachys türleri tek yıllık veya çok yıllık otsu bitkilerdir veya basit saplı veya sapsız yapraklı küçük çalılar şeklindedir (Tomou ve ark., 2020). Genellikle terminal başak benzeri bir çiçeklenme oluşturur ve çevrel dizilişli çiçek sayısı dört ila çok sayıda olabilir (Tomou ve ark., 2020). Kaliks tüpleri tübüler-çansı, 5 veya 10 damarlıdır, belirgin veya belirgin olmayan iki dudaklıdır ve neredeyse beş eşit dişe sahiptir (Tomou ve ark., 2020). Korolla 2 dudaklı, üst dudak düz veya miğferli, genellikle tüylü, alt dudak ise 3 parçalı ve tüysüz ila tüylüdür (Tomou ve ark., 2020). Fındıkçıklar dikdörtgenden ovale kadar ve tepede yuvarlağımsıdır (Tomou ve ark., 2020). *Stachys* cinsinde yer alan türler üzerine etnofarmakolojik kullanımlarını destekleyecek şekilde birçok fitokimyasal ve farmakolojik araştırmalar yapılmıştır (Tundis ve ark., 2014; Tamokou ve ark., 2017; Satıl ve Açar, 2020; Tomou ve ark., 2020). Özellikle *Stachys* türlerinin antiinflamatuvar, antioksidan, analjezik, renoprotektif, anksiyolitik ve antidepresan aktiviteleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Genel olarak, bu cinsin izole edilen 200'den fazla bileşiği vardır ve bunlar terpenler (triterpenler, diterpenler, iridoidler), polifenoller (flavon türevleri, fenilethanoid glikozitler, lignanlar), fenolik asitler ve uçucu yağlar gibi önemli kimyasal gruplara aittir (Tomou ve ark., 2020).

Stachys cinsi taksonomik olarak zor bir cinstir (Salmaki ve ark., 2012). Bu cinsten yer alan türlerin filogenetik ilişkilerinin aydınlatılabilmesi için bir çok moleküler çalışmada yapılmıştır (Scheen ve ark., 2010; Bendiksby ve ark., 2011; Dündar ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2013; Bendiksby ve ark., 2014; Salmaki ve ark., 2015; Güner, 2016; Berumen Cornejo ve ark., 2017; Salmaki ve ark., 2019; Akcicek, 2020; Xue ve

ark., 2023). Bu çalışmalarda genellikle nrDNA ITS bölgesi ve cpDNA *rbcL*, *trnH-psbA* bölgeleri barkod bölge olarak kullanılmıştır (NCBI).

DNA barkod teknolojisi, türlerin tanımlanması için kısa ve standart DNA parçaları kullanan yeni bir moleküler tanıma teknolojisidir (Li ve ark., 2021). DNA barkodlama teknolojisi türlerin tanımlanması, biyosistematik, biyolojik çeşitlilik, ekolojik komünite evrimi, türlerin korunması, arkeolojik örnek tanımlama ve diğer konularda hızlı bir şekilde uygulanmaktadır (Li ve ark., 2021). DNA barkodlaması, kriptik veya istilacı türlerin tanımlanması, korunması ve komünite ekolojisi için etkili bir aracı temsil etmektedir (Matiz-Ceron ve ark., 2022).

İlk zamanlarda DNA barkod bölgeleri hayvansal organizmaların sınıflandırılmasında kullanılsa da sonradan bitkilerin filogenetik ilişkilerinin aydınlatılmasında da yaygın olarak kullanılmıştır (Matiz-Ceron ve ark., 2022). Çeşitli taksonomik seviyelerde filogenetik ilişkilerin kurulması için *atpB*, *atpB-rbcL*, *matK*, *ndhF*, *rbcL*, *rpl16*, *rps4-trnS*, *rps16*, *trnH-psbA*, *trnL-F*, *trnS-G* gibi kodlama bölgelerini, intronları ve genlerarası boşlukları içeren birçok fragment kullanılmaktadır (Dong ve ark., 2012). Ancak yakın ilişkili türlerin özellikle de son zamanlarda evrimsel olarak farklılaşan türlerin bu bölgelerinde fazla çeşitlilik görülmemektedir (Dong ve ark., 2012). Bu nedenle, filogenetik analizlerin çözünürlüğünü artırmak ve uygun sonuçlar elde etmek için birçok genin bir arada kullanıldığı da görülmektedir (Dong ve ark., 2012).

Stachys cinsi üzerine son yıllarda yapılan filogenetik çalışmalarda farklı gen ve genlerarası kodlanmayan bölgelerin bir arada kullanıldığı görülmektedir (Salmaki ve ark., 2009; Scheen ve ark., 2010; Salmaki ve ark., 2012; Salmaki ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2015; Akcicek ve ark., 2016; Salmaki ve ark., 2019; Akcicek ve Güner, 2022; Xue ve ark., 2023). Bu tez çalışması kapsamında da kloroplast genomunda yer alan iki farklı bölgenin dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler ile Bayesian ve Maksimum Parsimony filogenetik ağaçları oluşturulmuştur.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Lamiaceae (Labiatae/ Nanegiller) Familyasının Morfolojik Özellikleri

Lamiaceae familyası adını Pliny tarafından kullanılan eski Latince'den ya da korolla tüpü şekli olan lamium'dan almıştır (Simpson ve ark., 2012).

Lamiaceae familyası hermafrodit bazen ginodioik, aromatik eterik yağ üreten kısa saplı glandular tüylü otsu bitkiler, çalılar ya da nadiren ağaçlardan oluşur. Gövdeler en azından gençken genellikle 4 köşelidir (enine kesitte kare). Yapraklar basit [nadiren pinnat], stipulsuz, karşılıklı, bazen dairesel [nadiren sarmal] dizilişlidir. Çiçeklenme durumu bir vertisillatta lateral simöz, tirse ya da tek çiçekli, aksillar çiçeklidir. Çiçekler iki eşeyli [nadiren tek eşeyli], çoğunlukla zigomori. Brakte ve brakteollü, hipogindir. Periant iki sıralı ve diklamid; korolla genellikle bilabiat, bazen aktinomorf ve hipantum yoktur. Kaliks sinsepal, 5 zigomorf, bazen bilabiat lobludur. Korolla simpetal, 4 ya da 5 loblu (iki lob birleşirse 4). Stamenler 2, 4 ya da 2 verimli +2 staminodlu, dairesel, epipetaldir (korolla tüpüne bağlı). Anterler, *Salvia* ve ilişkili türlerde anterlerin tekalarını ayıran konnektif çatlağı boyunca açılır (bazı taksonlarda teka kaybolmuş). Ginekeum sinkarp iki karpelli ve 4 gözlü, üst durumlu ovaryumludur. Stilus tek, uçta iki parçalı, terminal ya da ginobazik; ovaryum her bir karpeli ayıran yalancı septalı 4-loblu; stigmalar genellikle 2 adettir. Plasentasyon bazal; ovüller anatropdan hemitropa kadar değişen şekillerde, uniteknik, her karpelde 2 her loku- lusta 1 adettir. Nektaryumlar ovaryum tabanında bir disk ya da yastık şeklindedir. Meyve genellikle, 4 [1-3] nutletli şizo- karp, drupa ya da üzüksüdür. Bitki çoğunlukla eterik yağ ve karbonhidrat stakis (bir tetrasakkarit) içerir (Simpson ve ark., 2012).

2.2. Lamiaceae Familyası Hakkında Genel Bilgiler

Lamiaceae familyası dünyada 245 cins ve 7886 tür ile temsil edilen geniş yayılışlı bir familyadır (Celep ve Dirmenci, 2017). Harley ve ark. (2004) Lamiaceae familyası Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae ve Viticoideae olmak üzere yedi alt familyaya ayrılmıştır. Daha sonra Cymarioideae, Peronematoideae, Premnoideae, Callicarpoideae and Tectonoideae alt familyaları tanımlanmıştır (Harley ve ark., 2004). Ülkemizde ise Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Scutellarioideae ve Viticoideae alt familyalarında yer alan türler yayılış göstermektedir (Harley ve ark., 2004; Celep ve Dirmenci, 2017).

Lamiaceae familyasının tür sayısı bakımından en zengin cinsleri *Salvia* L. (945 tür), *Scutellaria* L. (360 tür), *Stachys* L. (300 tür), *Plectranthus* L'Hér. (300 tür), *Hyptis* Jacq. (280 tür), *Teucrium* L. (250 tür), *Vitex* L. (250 tür), *Thymus* L. (220 tür) ve *Nepeta* L. (200 tür)'dır (Harley ve ark., 2004; Will ve ark., 2015; Celep ve Dirmenci, 2017) .

Türkiye'de Lamiaceae familyası 603 tür ve 782 takson ile temsil edilmektedir (Celep ve Dirmenci, 2017). Familyanın ülkemizdeki endemik tür sayısı 271 olup tür sayısı bakımından endemizm oranı %44.9, ülkemizdeki endemik takson sayısı ise 346 olup, takson sayısı bakımından endemizm oranı ise %44.2'dir (Celep ve Dirmenci, 2017). Lamiaceae familyasının ülkemizde tür sayısı bakımından en büyük beş cinsi sırasıyla *Salvia* L. (100 tür), *Stachys* L. (90 tür), *Sideritis* L. (45 tür), *Thymus* L. (42 tür) ve *Nepeta* L. (39 tür)'dır. Lamiaceae familyasının ülkemizde takson sayısı bakımından en büyük beş cinsi ise sırasıyla *Stachys* L. (118 takson), *Salvia* L. (107 takson), *Sideritis* L. (54 takson), *Phlomis* L. (53 takson) ve *Teucrium* L. (49 takson)'dur. Endemik takson sayısı bakımından *Salvia* L. (%58), *Stachys* L. (%53) ve *Sideritis* L. (%45) ilk sıralarda yer almaktadır (Celep ve Dirmenci, 2017)

Lamiaceae familyası çoğunlukla dünya genelinde yayılış göstermektedir. Tıbbi amaçlı gıda bitkileri olarak (*Menta* L. “nane”; *Ocimum* L. “fesleğen”; *Rosmanirus* L. “biberiye”; *Salvia* L. “adaçayı”; *Thymus* L. “kekik” gibi), güzel kokulu bitkiler olarak (*Lavandula* L. “lavanta”; *Pogostemon* Desf. “silhat esansı” gibi), yiyecek olarak (*Stachys affinis* Bunge “çin enginarı” gibi) ve birçok bitkinin de süs bitkisi olarak kullanılması familyanın ekonomik önemini oluşturmaktadır (Simpson ve ark., 2012).

Uçucu yağlar, bitkilerin ikincil metabolizması tarafından üretilen uçucu, lipofilik ve kokulu maddelerdir (Ramos da Silva ve ark., 2021). Aromatik özellikleri ve kimyasal bileşimleri nedeniyle kozmetikte ve halk hekimliğinde antiseptik, antifungal ve böcek öldürücü etkileri için kullanılmaktadırlar (Ramos da Silva ve ark., 2021). Genel olarak uçucu yağların biyolojik aktiviteleri kimyasal bileşimlerinde bulunan ana maddeler tarafından sağlanmaktadır (Ramos da Silva ve ark., 2021). Uçucu bir yağın kimyasal bileşimi türe, mevsime, sirkadiyen ritimlere, bitki yaşına ve coğrafi konuma bağlı olarak değişebilmektedir (Ramos da Silva ve ark., 2021).

Lamiaceae familyasının türleri sekonder (ikincil) metabolitler bakımından oldukça zengindir. Sekonder metabolitler bakımından zengin olan taksonlar arasında

Sideritis L., *Teucrium* L., *Thymus* L., *Lavandula* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Ocimum* L., *Lamium* L., *Salvia* L. cinsleri ile *Betonica officinalis* L., *Glechoma hederacea* L., *Hyptis pectinata* L., *Melissa officinalis* L., *Marrubium vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Satureja hortensis* L., *Salvia lavandulifolia* Vahl., *Scutellaria lateriflora* L. ve *Ziziphora tenuior* L. türleri gelmektedir (Ramos da Silva ve ark., 2021).

Lamiaceae familyasında yer alan türlerin çoğu kozmetik ve bitkisel ilaçlarda kullanılan ve familyaya büyük ekonomik önem kazandıran aromatik özelliklere sahiptir. *Mentha*, *Ocimum*, *Salvia*, *Clerodendrum* L. ve *Plectranthus* L'Hér. ekonomik öneme sahip cinsler arasında öne çıkmaktadır (Ramos da Silva ve ark., 2021).

Ayrıca Lamiaceae familyası antioksidan, antifungal, antibakteriyel ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle bazı hastalıklarla savaşmak için kullanılmaktadır (Ramos da Silva ve ark., 2021). Böceklere karşı etkili olan ve ayrıca çevresel iyileştirme (fitoremediasyon) ve termal koruma (yeşil çatılar) üzerinde etkili olan başka Lamiaceae türleri de bulunmaktadır (Ramos da Silva ve ark., 2021).

Lamiaceae familyasında yer alan türler flavonoidler ve terpenler açısından özellikle de diterpenoidler bakımından zengindir (Ramos da Silva ve ark., 2021). Aromatik özelliklere sahip baharatlar arasında en iyi bilinen türler yerel isimleri ile kekik, fesleğen, güveyotu, biberiye, adaçayı ve melisa'dır. Biyoaktif bileşiklerin bu çeşitliliği Lamiaceae familyasında yer alan türleride potansiyel ekonomik ve farmakolojik değerlerin bir arada bulunmasını sağlamaktadır (Ramos da Silva ve ark., 2021).

2.3. *Stachys* Cinsi

Stachys cins ismi, *Triticum* (Buğday) cinsi çiçek yapısına benzer anlamına gelen 'Stachys' kelimesinden türetilmiştir ve çiçeklenmenin genellikle başak şeklinde olduğunu ifade eder (Quattrocchi, 2000).

Stachys cinsi Akdeniz, Asya, Amerika ve Güney Afrika'nın ılıman ve tropik bölgelerinde yayılış göstermektedir (Sadeghi ve ark., 2022). Dünya genelinde yaklaşık 370 tür içermektedir.

Stachys cinsi *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası, 1982) adlı eserin 7. Cildinde 72 tür ve 81 takson ile temsil edilmektedir

(Bhattacharjee, 1982). Bu eserde *Stachys* cinsinin bölüm yazarlığını R. Bhattacharjee tarafından yapılmıştır. Bu eserin ardından Türkiye *Stachys* cinsi üzerine en kapsamlı çalışma Akçiçek ve ark. (2010), Akçiçek ve ark. (2015) ve Güner (2016) tarafından yapılmıştır (Akciçek ve ark., 2010; Akçiçek ve ark., 2015; Güner, 2016). Bu çalışmaların sonucunda *Stachys* cinsi ülkemizde 97 tür (125 takson) ile temsil edilmekte olup 69 takson ülkemiz için endemiktir (Akçiçek, 2012; Güner ve Aslan, 2012). Ülkemiz *Stachys* cinsinin ana çeşitlilik merkezlerinden birisidir (Güner, 2016).

Stachys cinsi ülkemizde geniş bir yayılım göstermekte olup Doğu Akdeniz (Antalya-Adana), Ege Bölümü, Yukarı Sakarya, Ergene, Istranca Bölümü, İç Batı Anadolu, Batı/Doğu/Orta Karadeniz, Erzurum, Kars, Van, Dicle, Yukarı/Orta Fırat, Orta/Yukarı Kızılırmak, Hakkari bölgelerinde yayılım göstermektedir (Akçiçek, 2012). Ülkemizden sonra toprak bütünlüğü olarak yaklaşık 20 kat büyük olan Avrupa'nın tamamında ise 81 tür bulunmaktadır (Salmaki ve ark., 2012).

Stachys cinsi halk arasında 'Deliçay, Ketençayı, Gevrek ısırgan, Çayçe, Mayasılotu, Boncuk şalba, Köprülüçay, Soğulcan, Kalınkarabaş, Tokalı çay, Kumçayçesi, Dağçayçesi, Arapdeliçayı, Sümbülçayı, Hacıosmanotu' gibi yöresel isimlerle bilinen türlere sahiptir (Akçiçek, 2012).

Stachys türleri, hoş kokulu, tek ya da çok yıllık otsu, bazen tabanda çalimsı nadiren bodur çalılar şeklindedir. Kaliks tüpsü ile kampanulat 5-10 damarlı, nadiren 2 dudaklı, 5 dişli. Korolla kırmızı, pembe, sarı ve beyaz renkte. Stamen 4 tane, korolla tüpünün boyunu aşmış. Fındıkçık ters yumurtamsı ile dikdörtgensiz şeklindedir (Bhattacharjee, 1982; Akciçek ve ark., 2010; Akçiçek ve ark., 2015; Güner, 2016)

Stachys cinsi etnobotanik özellikleri açısından çok önemli olup halk ilacı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. *Stachys* türleri Türkiye, Lübnan, Yunanistan, İtalya ve Balkan ülkeleri gibi Akdeniz ülkelerinde potansiyel antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tüketilmektedir (Erkan ve Dülger, 2016). Birçok ülkede *Stachys* anksiyete, dermatit, sindirim bozuklukları, enfeksiyonlar ve genital tümörleri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. *Stachys* cinsinin birçok türü tıbbi ve ekonomik açıdan değerli bir aromatik bileşenin ve uçucu yağın kaynağıdır (Sadeghi ve ark., 2022).

Stachys türlerinin sahip olduğu sekonder metabolitlerin genellikle iridoit, flavonoid ve fenil etanoit glikozitleri ile fenolik asitler, yağ asitleri, uçucu yağlar ve

diterpenler olduğu gösterilmiştir (Tundis ve ark., 2014; İşcan ve ark., 2015). Uçucu yağlar üzerinde yapılan çalışmalarda α - ve β -pinen, mirsen, limonen, germakren D, bisiklogermakren, γ -kadinen, pulegon, karyofilen, zingiberen ve spatulenol gibi terpenler başta olmak üzere genellikle seskiterpenlerin ve oksijenli türevlerinin yaygın olduğu görülmektedir (İşcan ve ark., 2015).

Ülkemizde bazı türleri grip, soğuk algınlığı, üst solunum yolları rahatsızlıklarının tedavisi için (*Stachys cretica* subsp. *anatolica* Rech.f.) ve kan basıncını düzenleme (*S. thirkei* C.Koch) için tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Güner, 2016). Ayrıca *S. cretica* subsp. *smyrnaea* Rech.f taksonu hem mide ağrılarını azaltıcı etki göstermekte hemde ellerdeki yaraların iyileşmesini sağlamak için kullanılmaktadır (Güner, 2016).

Stachys annua L. subsp. *annua*, *S. cretica* L. subsp. *mersinaea*, *S. iberica* subsp. *georgica* Rech.f, *S. iberica* M.Bieb. subsp. *stenostacya* ve *S. lavandulifolia* Vahl taksonları dağ çayı olarak bilinmekte ve ağırlıklı olarak soğuk algınlığı için kullanılmaktadır (Altundag ve Ozturk, 2011).

Erkan ve Dülger (2016) tarafından yapılan çalışmada halk arasında hastalıkları iyileştirmek için kullanılan *Stachys thirkei* C.Koch türünün antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. *Stachys thirkei* türünün kök ve çiçekleri kısımları kullanılmıştır. Halk arasında bu bitki kan basıncını düzenlemek ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. *Stachys thirkei* türünden elde edilen kloroform ve etil asetat ekstratlarının bakteri kültürlerine ve maya kültürlerine karşı antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır. Bitkinin antimikrobiyal etkisi en yüksek olan etil asetat ekstratına *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (19.42 mm) bakterisine karşı ölçülmüştür. En yüksek antifungal aktivitesi etanol ekstraktında *Candida glabrata* ATCC 90030 (17.36 mm) maya kültürüne karşı ölçülmüştür. Araştırma sonucu elde edilen bulgular bitkinin kök ve çiçek kısımlarının mikrobiyal enfeksiyonlara karşı etkili olduğunu göstermiştir (Erkan ve Dülger, 2016).

2.4. *Stachys* Cinsi Üzerine Yapılan Sitogenetik Çalışmalar

Martin ve ark. (2011), Türkiye'deki 26 *Stachys* taksonunun kromozom sayısını belirlemek için yaptıkları çalışmada diploid kromozom sayısının $2n=30$ olduğunu tespit etmişlerdir (Martin ve ark., 2011).

Dirmenci ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada *Stachys byzantina*, *S. vuralii* ve *S. thirkei* türlerinin kromozom sayısı $2n=30$ olarak tespit edilmiştir (Dirmenci ve ark., 2011)

Martin ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Stachys chamosericea*, *S. pinardii* türlerinin kromozom sayısı $2n=30$ olarak tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada *Stachys euadenia*, *S. butleri*, *S. pseudopinardii* ve *S. longiflora* türlerinin kromozom sayıları $2n=34$ olarak tespit edilmiştir (Martin ve ark., 2016).

Güner ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Stachys kurdica* türünün kromozom sayısı $2n=34$ olarak tespit edilmiştir (Güner ve ark., 2019).

2.5. *Stachys* Cinsi Üzerine Yapılan Filogenetik Çalışmalar

Scheen ve ark. (2010), Lamioideae alt familyasının (Lamiaceae) (Pogostemonoideae alt familyası dahil) *trnL* intron, *trnL-trnF* infergenik spacer, ve plastid *rps16* dizilerine dayalı MP ve Maximum likelihood (ML) analizlerini yapmışlardır. Bu çalışmada filogenetik analizlere dayalı olarak Lamioidea alt familyasına üç yeni tribus ekleyerek dokuz tribusa ayrıldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre *Betonica* altcinsi tekrar cins düzeyine yükseltilmiş, *Stachys*, *Sideritis*, *Ballota* L. ve *Leucas* R.Br. cinslerinin kuvvetli şekilde polifiletik veya parafiletik (Scheen ve ark., 2010).

Bendiksby ve ark. (2011), 60 cinse ait 238 aksesyon kullanılarak Lamioideae alt familyasında yer alan cinslerin filogenetik ilişkilerinin aydınlatılması ve taksonomik durumlarının güncellemesi için kapsamlı bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada dört kloroplast bölgesinden (*matK*, *rps16*, *trnL* intron ve *trnL-F* spacer) elde edilen dizilerin Bayesian ve Parsimoni analizleri yapılmıştır. Parsimoni ve Bayesiye filogenetik yöntemlerin sonuçları, önceki bulguları doğrulamakla birlikte, daha iyi desteklenmiş bir ağaç sunmuştur. Yeni eklenen tüm cinsler, daha önce oluşturulmuş tribuslara veya yeni kurulan Paraphlomideae Bendiksby tribusuna yerleştirilmiştir. Ayrıca bu tribusun içerisinde *Ajugoides*, *Matsumurella* ve *Paraphlomis* yer almaktadır. İki cinsin (*Lamium*, *Otostegia*) monofiletikliğini sağlamak için türlerin aktarılması önerilmiş; buna karşın on cinsin (*Ballota* s.str., *Lagopsis*, *Leonotis*, *Leonurus*, *Leucas*, *Microtoena*, *Phlomoideis*, *Sideritis*, *Stachys*, *Thuspeinanta*). monofiletik olmadığı tespit edilmiştir. *Eriophyton* ve *Stachyopsis* cinsleri *Lamieae* tribusuna dahil edilirken, *Hypogomphia* cinsi *Stachydeae*

tribusuna, *Loxocalyx* cinsi ise Leonureae tribusuna dahil edilmiştir. *Betonica*, *Colquhounia*, *Galeopsis* ve *Roylea* cinsleri bir tribusa yerleştirilmemiştir. Toplamda, biri alt cins düzeyinde ve 13'ü tür düzeyinde olmak üzere 14 yeni kombinasyon yapılmıştır (Bendiksby ve ark., 2011).

Dündar ve ark. (2013) tarafından *Stachys* cinsi *Eriostomum* seksiyonu üzerine morfolojik ve filogenetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç nrDNA ITS bölgesi kullanılarak neighbour-joining yöntemiyle yapılmıştır. Morfolojik analizler tribusun Germanicae R.Bhattacharjee, Creticae R.Bhattacharjee ve Spectabiles R.Bhattacharjee alt tribuslarına ayrılmasını doğrulamıştır. Ancak filogenetik ağaçta, üç yerine Creticae ve Germanicae-Spectabiles olmak üzere iki alt grup gözlenmiştir. Ayrıca, *Stachys cretica* L. türünün dokuz alt türü polifiletik bir grup oluşturmuştur. Creticae alt seksiyonunda iki klad tanımlanırken, Germanicae-Spectabiles alt bölümünde anlamlı bir klad tespit edilememiştir. Filogenetik ağaçta, *Eriostomum* seksiyonunun monofiletik olduğu açıkça gözlemlenirken, *Betonica* (L.) R.Bhattacharjee alt cinsinin son zamanlarda cins olarak önerilen yeni durumu teyit edilmiştir (Dündar ve ark., 2013).

Bendiksby ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada *Stachys tibetica* Vatke türünün filogenetik pozisyonunu hem kloroplast (*rps16* intron, *trnL-F* bölgesi ve *matK*) hem de nrDNA ITS dizileri kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen dizilerden hem parsimoni hem de Bayesian yöntemleri ile filogenetik ağaçlar elde edilmiştir. Sonuç olarak *Stachys tibetica* türünün *Stachys* cinsine uzak konumda olduğu yer aldığı görülmüştür (Bendiksby ve ark., 2014).

Salmaki ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada İran'ın güney ve güneybatısında endemik olan *Stachys persepolitana* Boiss. türünün taksonomik durumunu belirlemek için filogenetik bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada filogenetik ağaç nrDNA ITS ve cpDNA *rps16* intron, *trnL-F* ve *matK* dizilerine dayalı olarak Parsimoni ve Bayesian metodları ile oluşturulmuştur. Morfolojik özelliklerine bakılarak *Stachys* cinsine yerleştirilen *S. persepolitana* türünün yapılan filogenetik çalışma sonucunda *Lamium* cinsinde yer alması gerektiği sonucuna varılmıştır (Salmaki ve ark., 2015).

Stachys cinsi *Fragilicaulis* seksiyonunun ülkemizde yayılış gösteren örneklerinin taksonomik revizyonu Güner (2016) tarafından yapılmıştır. Bu seksiyonda yer alan türlerin filogenetik ilişkileri nrDNA ITS ve cpDNA *trnL*-F dizilerine dayalı olarak incelenmiştir (Güner, 2016).

Cornejo ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada *Stachys coccinea* Ortega kompleksinde yer alan türlerin filogenetik ilişkileri cpDNA *trnL* intron, *trnL*-F spacer ve *rps16* intron dizilerine dayalı olarak parsimoni ve bayesian metodları ile incelenmiştir. Sonuç olarak cpDNA bölgelerinin (*trnL* intronu, *trnL*-F aralığı ve *rps16* intron dizileri) kompleks içindeki çoğu türün filogenetik ilişkilerini çözümleyemediği belirtilmiştir. *Stachys coccinea* kompleksinin yeniden tanımlanarak tür sayısının üçe düşürülmesi (*Stachys coccinea*, *S. lindenii* Benth. ve *S. albotomentosa* Ramamoorthy) önerilmiştir. *Stachys pacifica* B.L.Turner, *S. manantlanensis* B.L.Turner, *S. torresii* B.L.Turner ve *S. jaimehintonii* B.L.Turner türleri *S. coccinea* türünün varyeteleri olarak değerlendirilmiştir (Berumen Cornejo ve ark., 2017).

Xue ve ark. (2023) tarafından yeni tür olarak tanımlanan *Stachys yingzuijeensis* L.Wu & Y.P.Chen taksonunun yakın türleri ile akrabalık ilişkisi ITS, ETS ve 5S-NTS dizileri kullanılarak araştırılmıştır. Filogenetik ağaçlar Bayesian ve Maksimum Likelihood metodlarıyla oluşturulmuştur. bayesian ağacının daha iyi çözünürlük gösterdiği belirtilmiştir. Filogenetik sonuçlar bu türün yeni bir tür olduğunu doğrulamıştır (Xue ve ark., 2023).

2.6. *Stachys* Cinsi Üzerine Yapılan Mikromorfolojik Çalışmalar

Salmaki ve ark. (2009) tarafından *Stachys* cinsine ait 37 türün ve *Sideritis* cinsine ait bir türün tüy özellikleri elektron ve ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Salgılı ve salgısız olmak üzere iki tip tüy gözlenmiştir. Salgı tüyleri saplı, sapsız ve kısa saplı olarak üç alt gruba ayrılmıştır. Salgı tüylerinin sap kısımlarının tek hücreli ya da çok hücreli olduğu gözlemlenmiştir. Salgısız tüyler basit dallanmamış ve dallanmış olarak iki alt gruba ayrılmıştır (Salmaki ve ark., 2009).

El Beyrouthy ve ark. (2009) tarafından *Stachys cretica* L. subsp. *vacillans* Rech. f., *Stachys ehrenbergii* Boiss., *Stachys distans* Benth., *Stachys neurocalycina* Boiss.,

Stachys nivea Labill., *Stachys palaestina* L. türlerinin tüy özellikleri çalışılmıştır. On salgılı ve on bir salgısız tüy tipi gözlenmiştir (El Beyrouthy ve ark., 2009)

Stachys cinsi *Germanicae* alt seksiyonunda yer alan taksonlar morfolojik, mikromorfolojik ve anatomik özellikleri Erdoğan (2011) tarafından incelenmiştir (Erdoğan, 2011).

Satıl ve ark. (2012) tarafından *Stachys* cinsi *Eriostomum* seksiyonunun nutlet mikromorfolojisi incelenmiştir (Satıl ve ark., 2012).

Grujić ve ark. (2014) tarafından *Stachys scardica* (Griseb.) Hayek türünün anatomik ve mikromorfolojik özellikleri ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Bu türde tek sıralı-çok hücreli basit tüyler, dallanmış salgısız tüyler ve salgılı peltat tüyler gözlemlenmiştir (Grujić ve ark., 2014).

Akçiçek ve ark. tarafından 2015 yılında tamamlanan proje kapsamında *Setifolia*, *Stachys*, *Fragilicaulis* ve *Olisia* seksiyonlarında yer alan türlerin taksonomik revizyonu yapılmıştır. Bu proje kapsamında bu türlerin polinolojik özellikleri de çalışılmıştır. Bu türlerin polenleri izopolar, 6-zonokolpat, ornementasyon retkulat yada biretkulat olarak rapor edilmiştir.

Karaismailoğlu ve Güner (2021) tarafından *Stachys* cinsi *Fragilicaulis* seksiyonu *Fragilis* alt seksiyonunda yer alan *Stachys longiflora* Boiss. & Balansa, *S. euadenia* Davis, *S. pinardii* Boiss., *S. antalyensis* Ayaşlıgil & Davis, *S. buttleri* Mill, *S. pseudopinardii* R. Bhattacharjee & Hub.-Mor., *S. chasmosericea* Ayaşlıgil & Davis türlerinin tüy özellikleri incelenmiştir. Yaprakta 10 tüy tipi, gövde ve kalıkste 7 tüy tipi, korolla üzerinde ise 8 farklı tüy tanımlanmıştır (Karaismailoğlu ve Güner, 2021).

Gerçek ve ark. (2022) *Stachys rizeensis* R. Bhattacharjee türünün anatomi ve tüy özelliklerini incelemişlerdir. Bu türde salgılı ve salgısız türler gözlemlenmişlerdir. Tek sıralı ve filiform ve çok hücreli salgısız tüyler gözlenmiştir. ayrıca peltat ve kapitat salgı tüyleri gözlenmiştir (Gerçek ve ark., 2022).

Güner ve Akçiçek (2022) tarafından yapılan çalışmada *Stachys benthamiana* Boiss. Morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri incelenmiştir. Kaliks ve gövde üzerinde yoğun, saplı ve sapsız salgı tüyleri görüldüğü belirtilmiştir (Güner ve Akçiçek, 2022).

Güner ve ark. (2023) tarafından *Stachys cuhacioglu* türü morfolojik ve mikromorfolojik verilere dayanarak yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Çalışmada aynı zamanda türün etimolojisine, fenolojisine, coğrafi dağılımına, IUCN tehdit kategorisine ve ekolojisine de yer verilmiştir (Güner ve ark., 2023).

2.7. Kloroplast Genomu

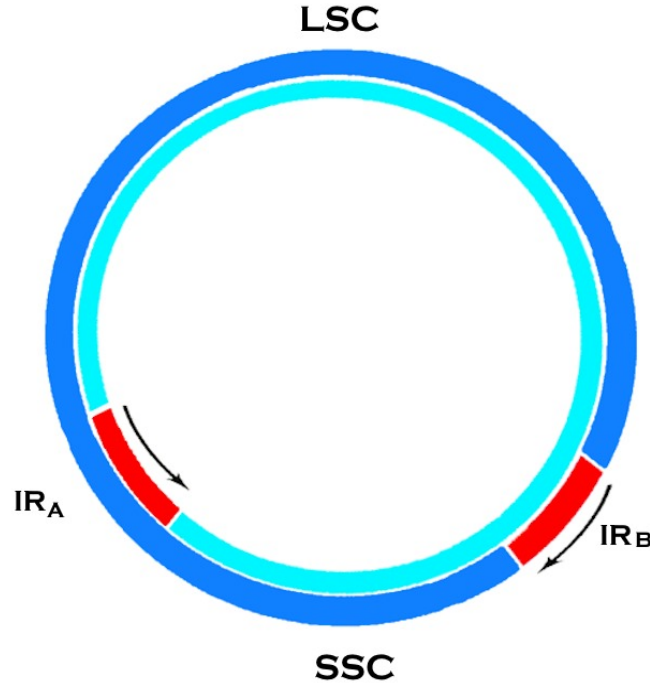
Mitokondri ve kloroplast kendilerine ait genoma sahip organellerdir. Kloroplast genomları her organelde çok sayıda kopya halinde bulunan çift zincirli ve çembersel DNA molekülleridir. Birçoğu küçük tek (SSC) bölgesi, büyük tek (LSC) kopya bölgesi ve bu ikisinin sınırlarını oluşturan iki ters tekrar serisi (IR_A ve IR_B) içerir (Klug ve ark., 2009). Kloroplast DNA'sı farklı organizmalarda benzer büyüklükte olup 100 kb ve 225 kb arasında değişiklik gösterir (Klug ve ark., 2009). Kloroplast DNA'sının boyutu mitokondri DNA'sından daha büyüktür. Bunun nedeni bir dereceye kadar gen sayısındaki artıştan dolayı olabilir. Fakat esas önemli farklılık cpDNA'sında genler arasında ve genler içinde kodlanmayan birçok uzun nükleotid dizilerinin bulunmasından kaynaklanır (Cooper ve ark., 2006). Genler içindeki bu bölgeler intronlar ya da kodlanmayan DNA olarak ökaryotik çekirdek DNA'sının özelliğidir. Ayrıca birçok DNA dizisinin dublikasyonu da mevcuttur. Farklı bitkilerde kodlanmayan diziler çeşitlilik gösterdiği için bunlar kloroplastın ilkin ökaryotik hücreye girmesinden sonra bağımsız olarak evrim geçirdiğini gösterir (Cooper ve ark., 2006; Klug ve ark., 2009; Madigan ve ark., 2017).

Günümüzde birçok bitkinin kloroplast genomlarının dizisi tümüyle belirlenmiş ve içerdiği genlerin çoğu tanımlanmıştır. Bu kloroplast genleri gen ekspresyonunda görevli RNA ve proteinleri kodladıkları gibi, fotosentezde işlev gören çeşitli proteinleri de kodlar (Klug ve ark., 2009). Kloroplast mRNA'larının çevriminde kullanılan ribozomal ve taşıyıcı RNA'lar organel genomu tarafından kodlanır. Bunlar, dört rRNA (23S, 16S, 5S ve 4.5S), 30 tRNA türünü kapsar. Mitokondri genomunun kodladığı daha az sayıdaki tRNA'ya karşın, kloroplast tRNA'ları tüm mRNA kodonlarını evrensel

genetik koda göre okumak için yeterlidir (Cooper ve ark., 2006). Çeviri sistemindeki RNA bileşenlerinin yanı sıra, kloroplast genomu yaklaşık 20 ribozomal protein kodları ki bunlar kloroplast ribozom proteinlerinin yaklaşık olarak üçte birini oluşturur. RNA polimerazın bazı alt birimleri kloroplastta kodlanıyor ise de, RNA polimerazın diğer alt birimleri ve kloroplast gen ekspresyonu için gerekli diğer faktörler nükleusda kodlanır (Cooper ve ark., 2006; Klug ve ark., 2009).

Son zamanlarda canlıların moleküler filogenisini incelemeye yönelik teknikler büyük ölçüde kloroplast ve mitokondri genom dizisi verilerine dayanmaktadır (Dong ve ark., 2012). Hebert ve ark. (2003) tarafından önerilen mitokondriyal sitokrom oksidaz I geni hayvan türlerinin tanımlanması ve filogenetik ilişkilerinin aydınlatılmasında en çok tercih edilen barkod bölgedir (Hebert ve ark., 2003; Li ve ark., 2021). Ancak bitkilerde mitokondriyal DNA'nın mutasyon oranının düşük olması nedeniyle mitokondriyal sitokrom oksidaz I geni barkod bölge olarak kullanılamamaktadır (Li ve ark., 2021).

Bitkilerde kloroplast genomu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni, kloroplast genomunun basit ve stabil bir genetik yapıya sahip olması, haploid olması, rekombinasyonun olmaması (veya çok nadir olması), genellikle tek ebeveynli olarak kalıtılması (bazı türlerde maternal, bazı türlerde de paternal kalıtım) ve hedef dizileri çoğaltmak için evrensel primerlerin kullanılabilmesidir (Şekil 2.1.). Bir diğer önemli neden hayvan mitokondriyal DNA'sının kullanımında karşılaşılan bazı intrinsik problemlere benzer şekilde sorunlarla karşılaşılmasına rağmen kloroplast genlerinin dizilenmesinin ve PCR amplifikasyonunun kolay olmasıdır (Dong ve ark., 2012).



Şekil 2.1. Kloroplast genomu şeması (www.biorender.com programında düzenlendi)

Geçtiğimiz yıllarda bitkilerde aday barkod bölgelerin tespit edilmesi ve uygulanması üzerine çok sayıda çalışma yapılmış ancak bu konuda bir fikir birliğine varılamamıştır (Li ve ark., 2021). CBOL Bitki Çalışma Grubu tarafından yapılan çalışmalarda ise öne çıkan yedi aday kloroplast DNA bölgesinin (*atpF*- *trnH* aralığı, *matK* geni, *rbcL* geni, *rpoB* geni, *rpoC1* geni, *psbK-psbI* aralığı ve *trnH-psbA* aralığı) performansını karşılaştırılmış ve dizi kalitesi ve tür tanımlama etkinliğine göre 2 bölgenin (*rbcL*+*matK*) kombinasyonunu bitki barkodu olarak önerilmiştir (Li ve ark., 2021). CBOL Bitki Çalışma Grubuna göre 2010 ile 2020 yılları arasında DNA barkodlaması üzerine yapılan yayınların sayısına göre, ITS ve ITS2, *rbcL*, *matK*, *trnL*-*trnF*, *psbA-trnH*, *ycf1* ve *rpoC1*, ilgi çeken yedi ana bitki barkodudur (Zhu ve ark., 2022).

NCBI veritabanındaki DNA barkod bölgelerinin sayısına göre ITS1 ve ITS2 en yaygın kullanılan dizilerdir (Zhu ve ark., 2022). 2010 yılından bu yana ITS1 ve ITS2 barkodları üzerine yapılan çalışmaların sayısının hızla arttığı görülmektedir. ITS2 bölgesi bitki taksonlarını farklı bitki familyalarından ayırmakla kalmayıp, aynı zamanda

yakın akraba olan taksonları da cins ve tür düzeyinde ayırt edebilmektedir (Zhu ve ark., 2022)

rbcL (179.816 öge), *matK* (174.431 öge) ve *trnL-trnF* (159.360 öge) çok lokuslu DNA barkodları olarak kullanılabildiklerinden dolayı çalışılan ikinci en baskın barkod bölgeleridir (Zhu ve ark., 2022). 2021 yılında *trnL-trnF* bölgesine dayalı yapılan yayın sayısı 10.000'e çıkmıştır. *rpoC1* (15.387 öge) ve *ycf1*'in (16.344 öge) bölgelerinin daha az çalışılmasının varsayılan sebebi ise uzun gen dizilerine (*Nicotiana tabacum*'un *ycf1* geni için 5709 bç) sahip olması ve daha düşük ayırım gücü göstermesine dayanabilmektedir (Zhu ve ark., 2022).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Filogenetik ve Mikromorfolojik Çalışmalarda Kullanılan Örnekler

Stachys cinsine ait türler, Türkiye’de doğal olarak yayılış gösterdikleri farklı lokalitelerden Prof. Dr. Ekrem Akçiçek, Prof. Dr. Tuncay Dirmenci ve Doç. Dr. Özal Güner tarafından toplanmıştır. Herbaryum materyali haline getirilmiş örneklerden temin edilen yapraklar DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Ayrıca yaprak, kaliks ve gövde örnekleri ise mikromorfolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan örneklerin lokaliteleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Moleküler çalışmalarda kullanılan *Stachys* türlerinin lokaliteleri

Tür adı	Lokalite
<i>Stachys setifera</i> subsp. <i>lycia</i> 5811	B2 Kütahya: Şaphane, nemli alanlar, 1000 m, 22.06.2015, Akçiçek 5811 & T.Yazıcı
<i>Stachys setifera</i> subsp. <i>lycia</i> 5815	C2 Antalya: Elmalı, 1050 m, 09.06.2015, Akçiçek 5815 & T. Dirmenci
<i>Stachys setifera</i> subsp. <i>setifera</i> 5446	Aşkale Erzurum arası 31. km, Çiğdemli köprüsü civarı, Paşayurdu köyü yol ayrımı, dere kenarı, 39° 58' 665" K/041° 01' 451" D. 30.06.2014, Akçiçek 5646
<i>Stachys setifera</i> subsp. <i>setifera</i> 3924b	Erzurum: Ispir Yusufeli arası 52. km, 24.08.2013, Dirmenci 3924b
<i>Stachys menthoides</i> 5651	Akçiçek 5651 & Ö.Güner, C9 Hakkari: Yüksekova, Gevar ovası, Şemdinli yolu 5. km, Beşbulak köyü girişi, Salix altı, nemli alanlar, 37° 32' 373" K/044° 20' 755" D, 1890 m, 15.07.2014
<i>Stachys menthoides</i> 5671	B9 Van: Gürpınar, Hamurkesen köyü, çay kenarı, 1890 m, 17.06.2014, Akçiçek 5671 & T. Dirmenci.
<i>Stachys menthoides</i> 5648 <i>Stachys palustris</i> 2409	B9 Van: Gürpınar, Çavuştepe köyü, çay kenarı, 1832 m, 14.07.2014, Akçiçek 5648 & T. Dirmenci. Arnavutköy, Durusu gölü, bahçe piknik alanı, bataklık, göl kenarı, 15 m, 41° 19' 181" K/028° 39' 790" m. 19.06.2014, Ö. Güner 2409
<i>Stachys sylvatica</i> 5816	A3 Bolu: Yedigöller, nemli alanlar, 780 m, 04.09.2015, Akçiçek 5816 & T. Dirmenci
<i>Stachys sylvatica</i> 4230	Kırklareli, İğneada, serpantin kayalık yamaçlar, 30.07.2014, T. Dirmenci 4230

trnL-F dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta dış gruplarla beraber toplam 89 takson çalışılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında dizilenen örnekler dışında

Stachys cinsine ait diğer *trnL-F* dizileri ve *Ballota* L., *Haplostachys* (A.Gray) Hillebr., *Phyllostegia* Benth., *Suzukia* Kudô, *Phlomidosema* Vved., *Prasium* L., *Sideritis* L. cinslerine ait türlerin *trnL-F* dizileri NCBI veri tabanından elde edilmiştir. Bu dizilerin NCBI numaraları EK I de tablo halinde gösterilmiştir.

matK dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta dış gruplarla beraber toplam 39 takson çalışılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında dizilenen örnekler dışında *Stachys* cinsine ait diğer *matK* dizileri ve *Ballota* L., *Phlomidosema* Vved., *Prasium* L. ve *Haplostachys*(A.Gray) Hillebr. cinslerine ait türlerin *matK* dizileri NCBI veri tabanından elde edilmiştir. Bu dizilerin NCBI numaraları EK II de tablo halinde gösterilmiştir.

3.2. Mikromorfolojik Çalışmalar

Herbaryum materyalinden alınan gövde, yaprak ve kaliks örnekleri çift taraflı yapışkan bant yerleştirilmiş staplar üzerine, stereomikroskop altında yerleştirilmiştir. Elektron mikroskobu çalışmaları Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde (İLTEK) gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 10 nm kalınlığında altınla kaplanmış örneklerin Zeiss marka cihaz ile 20 kw'lık güçle görüntüleri alınmıştır.

3.3. Filogenetik Çalışmalar

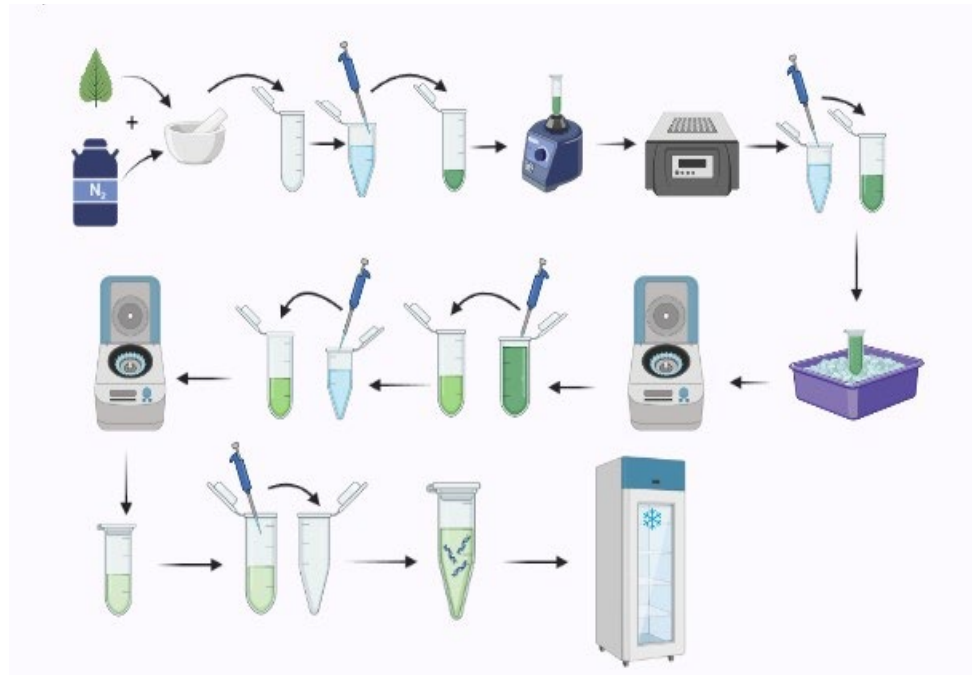
3.3.1. Total DNA İzolasyonu

Total DNA izolasyonları Qiagen Plant DNeasy izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. İzolasyon için aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir. Şekil 3.1'de şematize edilmiştir.

QIAGEN kiti ile DNA izolasyonu

- Silika jel içerisinde kurutulmuş her bir örnekten 40-50 mg tartılarak bir havan içerisine konuldu. Örnekler steril havan içerisinde sıvı azot ile ezildi. Toz haline getirilen örnekler 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplere yerleştirildi.
- Örneklerin üzerine 400 µl Buffer AP1 ve 4 µl RNase eklendi ve tüpler vortekslendi.

- Tüpler 65 °C sıcaklıkta 10 dk blok ısıtıcıda bekletildi. Blok ısıtıcıdaki tüpler 2-3 defa ters çevrilerek içeriğin homojen olması sağlandı.
- Blok ısıtıcıdan alınan tüpler oda sıcaklığında 1-2 dk bekletildi. Sonra üzerine 130 µl Buffer P3 ilave edilerek 5 dk buzun içerisinde bekletildi.
- Buz içerisinden alınan tüpler 5 dk 14000 rpm’de santrifüj edildi.
- Santrifüje edilen tüplerdeki süpernatant pipet ile 2 mL’lik filtreli tüplere aktarıldı. Tüpler 2 dk 14000 rpm’de santrifüj edildi.
- Kolondan alta geçen sıvı kısım yeni tüplere aktarıldı. Alınan hacmin 1.5 katı kadar Buffer AW1 eklendi.
- Elde edilen karışımdan 650 µl alınarak 2 ml’lik filtreli tüplere aktarıldı ve 1 dk 8000 rpm’de santrifüj edildi. Kolondan süzülen sıvı kısım atılarak işlem tekrarlandı.
- Kolonlar 2 ml’lik yeni tüplere yerleştirilerek üzerine 500 µl Buffer AW2 eklendi ve 1 dk 8000 rpm’de santrifüj edildi.
- Kolonlara tekrar 500 µl Buffer AW2 eklendi ve 2 dk 14000 rpm’de santrifüj edildi.
- Kolonlar 2 ml’lik santrifüj tüplerine yerleştirildi. Üzerine 50 µl Buffer AE eklendi. 5 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1 dk 8000 rpm de santrifüj edildi. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı.



Şekil 3. 1. DNA izolasyon basamaklarının şematik olarak gösterilmesi (www.biorender.com programında düzenlendi)

3.3.2. PCR Çalışmaları

PCR çalışmaları için 0.2 ml'lik steril tüpler kullanıldı. Tüplere numara verildi. Her bir tüpe 2.5 µl DNA ve 47.5 µl PCR karışımı ilave edildi. PCR karışımının içeriği Çizelge 3.2'de verildi. PCR çalışmalarında kullanılan primerlere ait diziler Çizelge 3.3 ve bu primerler için kullanılan PCR şartları da 3.4'de verilmiştir. Tüm aşamalar buz üzerinde ve steril kabinde içerisinde yapıldı.

Çizelge 3.2. PCR karışımında kullanılan bileşenler ve miktarları

PCR bileşenleri	PCR bileşenlerinin miktarı (µl)
Primer R	2
Primer F	2
Master mix buffer	25
ddH ₂ O (Steril)	18.5
Toplam hacim	50

Çizelge 3.3. Primer dizileri

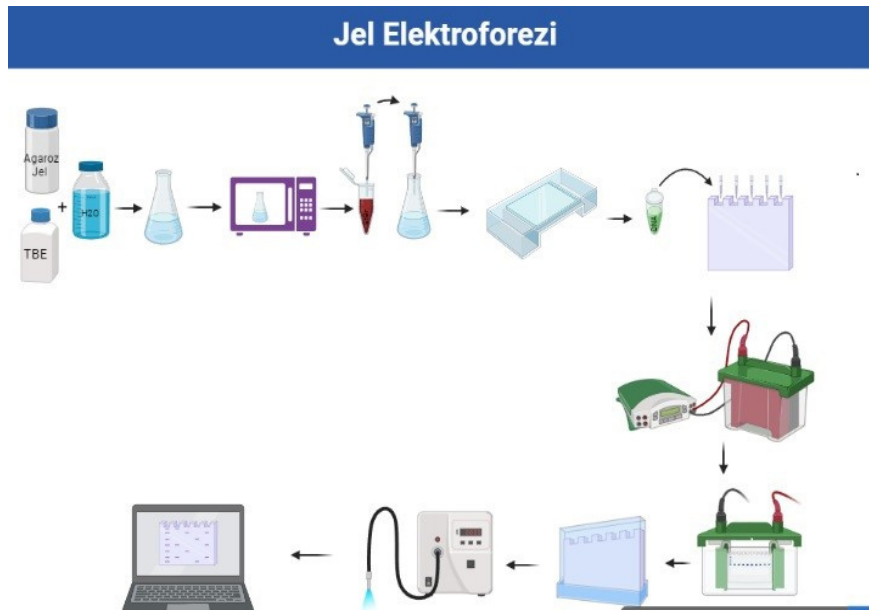
Primer adı	Primer sekansı	Kaynak
<i>trnc</i> -F	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'	Taberlet ve ark. 1991
<i>trnf</i> -R	5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'	Taberlet ve ark. 1991
<i>matK</i> -R	5'ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3'	K. J. Kim, unpublished
<i>matK</i> -F	5'CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3'	K. J. Kim, unpublished

Çizelge 3.4. PCR çalışmalarının yürütülmesi için kullanılan program (*trnL*-F ve *matK* primerleri için)

Sıcaklık	Zaman	
94 °C	30 saniye	
94 °C	30 saniye	} 30 döngü
50 °C	45 saniye	
68 °C	1 dakika	
68 °C	5 dakika	
4 °C	Kullanılana kadar	

3.3.3. Agoroz Jel Elektroforezi

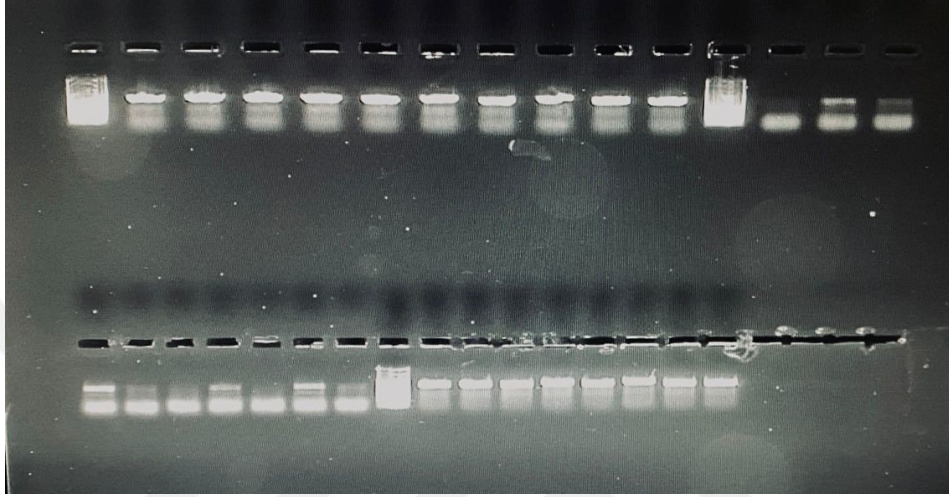
1. 100 ml 1X TBE tamponu ve 2 gr agoroz erlenin içerisinde ilave edildi, erlen hafifçe çalkalandı.
2. Agoroz jel çözeltisi homojen hale gelinceye kadar mikrodalgada ısıtıldı.
3. Mikrodalgadan çıkarılan erlen musluk altında hafifçe çalkalanarak soğutuldu.
4. Erlene 0.4 µl etidyum bromid eklendi ve iyice karıştırıldı.
5. Jelin döküleceği tank düz bir zemine koyularak taraklar yerleştirildi. Agoroz jel karışımı tanka döküldü. Tank içerisinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi.
6. Tankın içerisinde jelin yaklaşık 15 dk donması beklendi.
7. Jel donduktan sonra yerleştirilen taraklar, jele zarar vermeden dikkatli bir şekilde çıkarıldı.
8. Jel, 1 X TBE çözeltisi bulunan elektroforeze yerleştirildi ve jelin üzerini 1-2 cm geçecek kadar 1X TBE çözeltisi döküldü.
9. En baştaki kuyucuğa 3 µl markör diğer kuyucuklara da 10 µl per ürünü yüklendi.
10. Güç kaynağına bağlanan elektroforez 90 voltta 15 dk boyunca çalıştırıldı. Daha sonra 10'ar dakika aralıklarla 2 kez görüntü alındı.
11. Görüntüleme işlemi bilgisayara bağlı jel görüntüleme cihazı ile yapıldı.



Şekil 3. 2. Jel elektroforezi yapım aşamalarının şematik gösterimi (www.biorender.com programında düzenlendi)

3.3.4. Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi

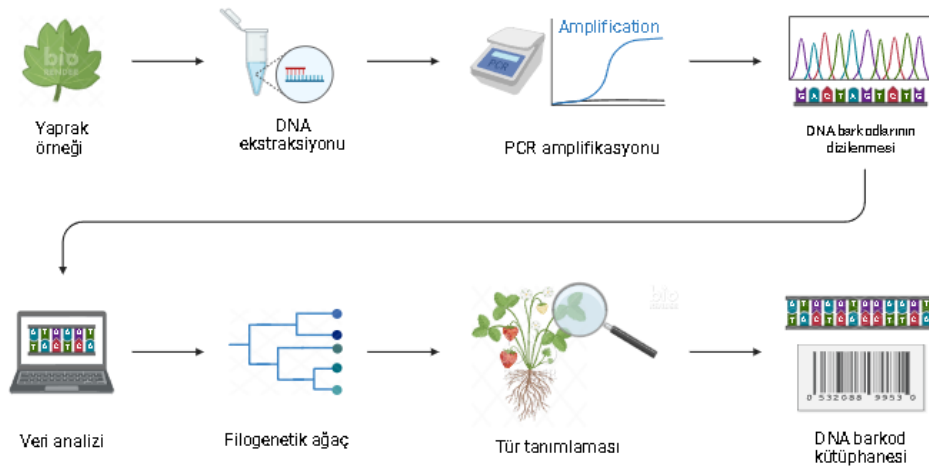
Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra içerisinde örnekler yüklü olan jel UV ortamına alınarak jel görüntüsü alındı. Elde edilen görüntüler bilgisayar ortamında incelendi. Yedeklemek için Şekil 3.3.'te görüldüğü gibi hem bilgisayara kaydedildi hem de çıktı olarak veriler alındı.



Şekil 3. 3. Agoraz jelde yürütülen DNA'ların görüntüsü (Foto:Z. Altındaş Pınar)

3.3.5. Dizi Analizi

DNA Barkodlama



Şekil 3. 4. Dizi barkodlama şeması (www.biorender.com programında düzenlendi)

Elektroforez sonucunda elde edilen görüntü incelendikten sonra DNA varlığından emin olunan örnekler, her bir örnekten 40 µl olacak şekilde çift yönlü dizileme için özel bir şirkete (Genoks) gönderildi.

Dizileme işlemi sonucunda elde edilen kromotogramlar Bioedit programında incelendi. İleri ve geri diziler kullanılarak Bioedit programında ortak diziler elde edildi. Her bir tür için elde edilen ortak diziler Bioedit programı ile hizalandı. PAUP* 4.0a152 ve MrBayes 3.2.7 programları ile Maksimum Parsimoni ve Bayesian ağaçlar elde edildi. MP analizi PAUP programında hōristik tarama seçeneği ile Tree Bisection Reconnection Branch-Swapping algoritması ve rastgele sekans replika eklemesi yöntemiyle yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Sonuçlar

Sect. *Stachys*

Uzun sürünücü rizomlu, tabanda rozetsiz, çok yıllık, mezofitik otsu bitkiler. Gövde yaprakları kordat-ovat veya oblong-lanseolat, tabanda kordat veya trunkata kadar, 0,25-10 cm, saplı veya üstte hemen hemen sapsız, uçta setasız. Çiçek yaprakları uçta setasız. Brakteoller birkaç tane, genellikle setalı, 0,2-4 mm. Korolla kırmızı-morumsu, tüp kaliksi geçik, tabana doğru sakkat.

4.1.1. *Stachys palustris* L.

Çok yıllık. Gövde dik 30-85 cm, pubesent tüylü, yapraklar dikdörtgen ila dikdörtgensiz mızraksı, 2-11 cm uzunluğunda uçta sivri kenarları krenat dişli, tabanda trunkat. Vertisillatlar 4-6 çiçekli, kaliks 6-10 mm uzunluğunda. Dişler eşit. Korolla pembemsi-morumsu 10-16 mm uzunluğunda puberulent. Fındıkçık geniş ters yumurtamsı.



Şekil 4. 1. *Stachys palustris* L. (Gölşirgani) (Foto: Ö.Güner)

4.1.2. *Stachys sylvatica* L.

Çok yıllık hirsut salgı pubesent tüylü, gövde 30-100 cm dik seyrek ila yoğun tüylü. Gövde yaprakları kalpsi ila yumurtamsı. 2.5-13 cm uzunluğunda uçta sivri kenarları krenaat ile testere dişli. Vertisillatlar 4-10 çiçekli. Kaliks 5-8 mm salgı pubesent tüylü dişler eşit, 2-3.5 mm uzunluğunda. Korolla beyaz çizgili kırmızımsı-morumsu 12-16 mm uzunluğunda üst dudak 3-5 cm, alt dudak 5-8 mm uzunluğunda, fındıkçık genişçe ter yumurtamsı.



Şekil 4. 2. *Stachys sylvatica* L. (Hamısrıgan) (Foto: E. Akçiçek)

Sect. *Setifolia*

Sürünücü rizomlu, çok yıllık, otsu bitkiler. Tabanda steril rozet yapraklar yok, gövde yaprakları oblong-lanseolat, tabanda trunkattan yuvarlağa kadar veya giderek daralmış, 0.3-2 cm, saplıdan hemen hemen sapsıza kadar, uçta setalı. Çiçek yaprakları uçta setalı. Brakteoller lanseolattan subulata kadar, uçta setalı, 1.5-11 mm. Korolla pembe, tüp kaliksin boyunu hemen hemen aşmış, tabana doğru sakkat

4.1.3. *Stachys menthoides* Kotschy & Boiss.

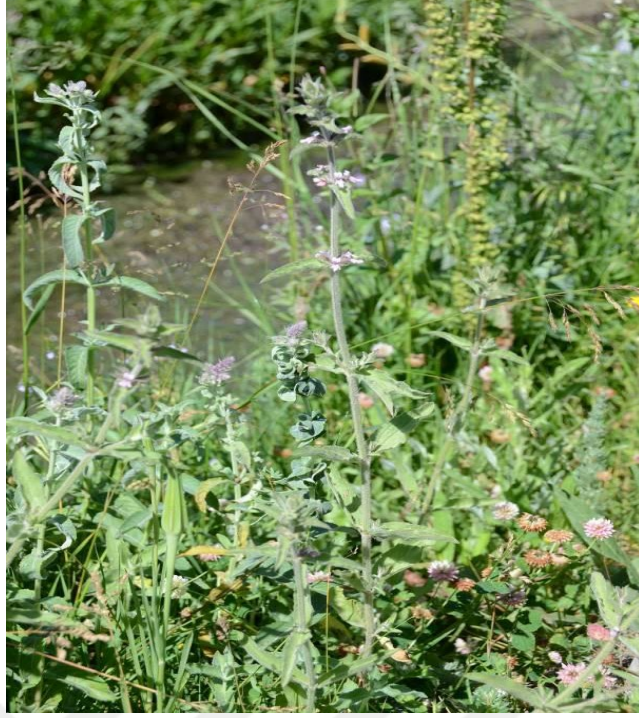
Otsu rizomlu çok yıllık bitkiler. Gövde 135 cm'ye kadar. Gövde ve yapraklar tüysüz bazen kısa salgı tüylü. Yapraklar yumurtamsı mızraksı 1.5-10 cm uzunluğunda uçta sivri kenarları serrat dişli tabanda turunkat ila kuneat. Vertisillatlar 4-6 çiçekli genellikle yakın brakteoller mızraksıyla şeritsi. Kaliks subbilabiat, hemen hemen çansı 7-9 mm uzunluğunda dişler neredeyse eşit, tüp tüylü. Korolla pembe 10-12 mm sakkat. Fındıkçık ters yumurtamsı.



Şekil 4. 3. *Stachys menthoides* Kotschy & Boiss. (Nanelisi)(Foto:Ö.Güner)

4.1.4. *Stachys setifera* C.A.Mey.

Otsu, sürünücü rizomlu çok yıllık. Gövde 1 m'ye kadar genellikle tek bazen dallanmış. Pilo-tomentos tüylü, aşağıda neredeyse tüysüz. Alt gövde yaprakları yumurtamsı mızraksı ila dikdörtgensi mızraksıya kadar 1.5-12.5 cm uzunluğunda kenarları serrat ila dentat dişli tabanda trunkat uçta sivri, üst gövde yaprakları uçta mukronat. Vertisillatlar 4-67 çiçekli uzak. Brakteoller dikdörtgensi mızraksı ila şeritsi mızraksı. Kaliks subbilabiat hemen hemen çansı 6-10 mm uzunluğunda dişler hemen hemen eşit oblong ila aküminant. Korolla pembe 10-14 mm uzunluğunda tabanda sakkat fındıkçık ters ovat.



Şekil 4. 4. *Stachys setifera* subsp. *setifera* C.A.Mey. (İnce Deliçay) (Foto: E. Akçiçek)



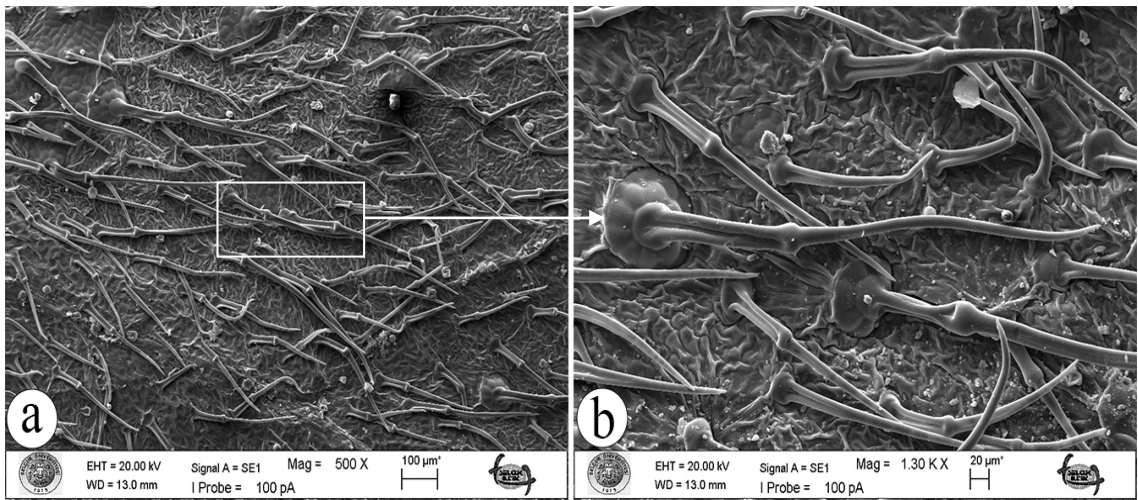
Şekil 4. 5. *Stachys setifera* subsp. *lycia* (Gand.) R. Bhattacharjee (Zarif Deliçay) (Foto:Ö.Güner)

4.2. Mikromorfolojik Sonuçlar

Bu tez çalışması kapsamında *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonunda yer alan taksonların yaprak, kaliks ve gövde tüy özellikleri taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir.

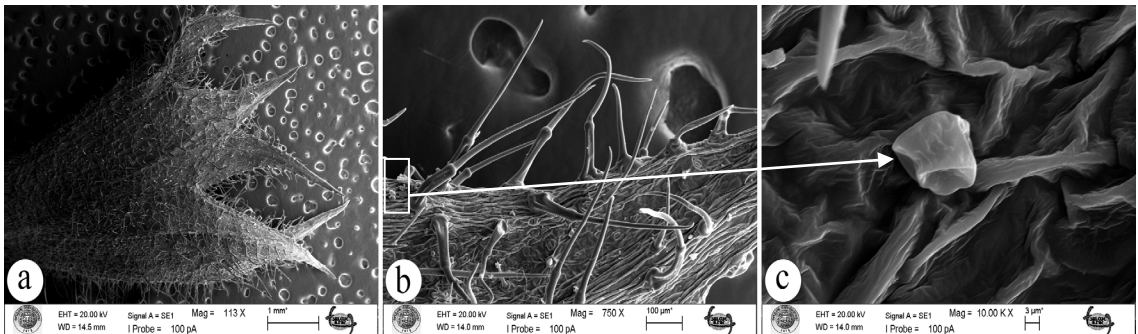
4.2.1. *Stachys palustris* L.

Stachys palustris türünde yapraklarda uzun, basit, yassı tüyler görülmektedir. Basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür.



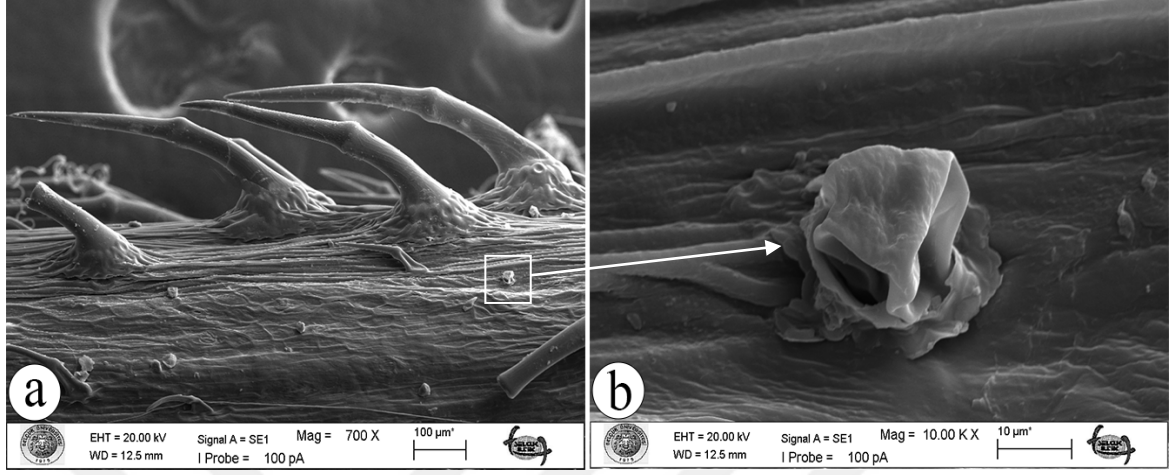
Şekil 4. 6. *Stachys palustris* yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)tüy görünümü

Kaliste basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler dik, uzun, 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri sapsız veya kısa saplı kapitattır.



Şekil 4. 7. *Stachys palustris* kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü

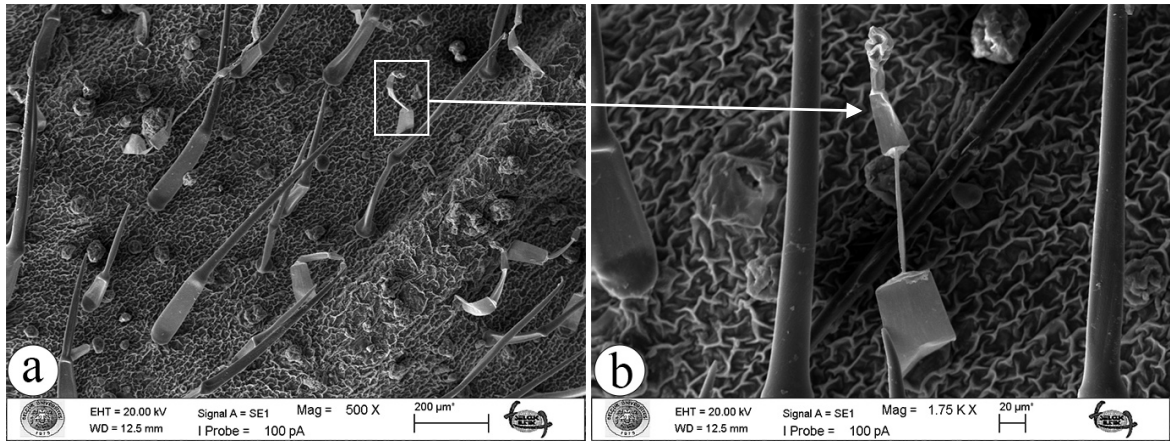
Gövdede basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler geri kıvrık, uzun ve 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler sapsız ya da kısa saplı kapitattır.



Şekil 4. 8. *Stachys palustris* gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

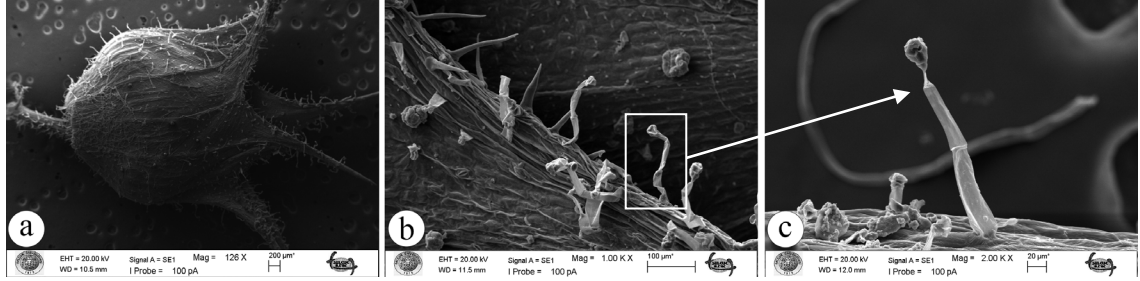
4.2.2. *Stachys sylvatica* L.

Stachys sylvatica türünde yapraklarda basit ve salgı tüyler görülmektedir. Uzun basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Uzun saplı kapitat salgı tüyler görülmektedir. Uzun salgı tüylerinde sap kısmı 2-çok hücrelidir.



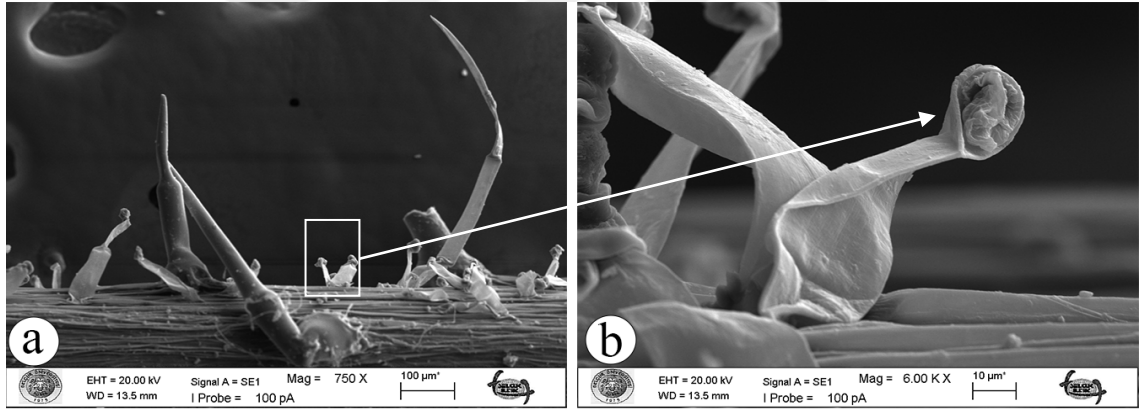
Şekil 4. 9. *Stachys sylvatica* yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü

Kalikte basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler kısa tek hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri uzun veya kısa saplı kapitatır. Uzun salgı tüylerinde sap kısmı 2-çok hücrelidir.



Şekil 4. 10. *Stachys sylvatica* kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüy

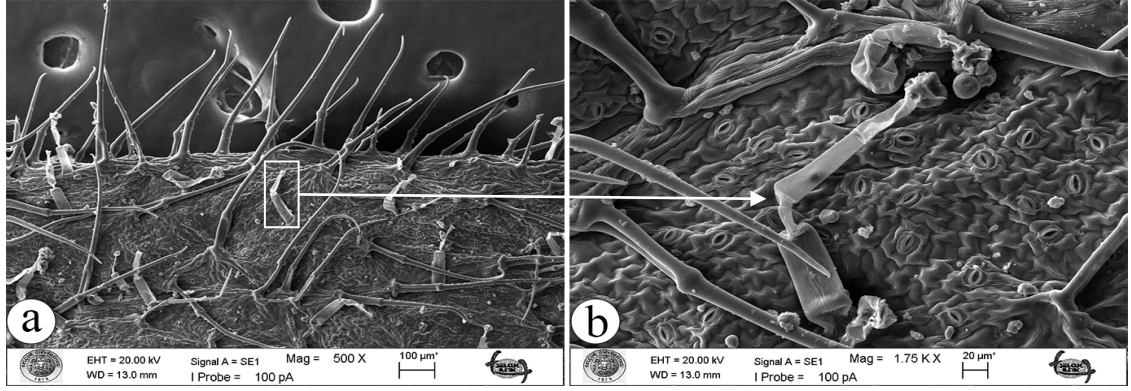
Gövdede basit ve salgı tüyler görülmektedir. Uzun basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri kapitat uzun veya kısa saplıdır. Uzun saplı salgı tüylerinde sap 2-çok hücrelidir.



Şekil 4. 11. *Stachys sylvatica* gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

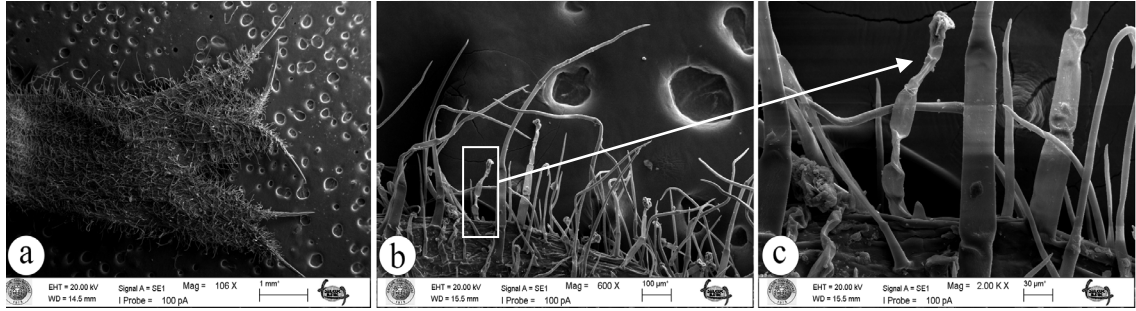
4.2.3. *Stachys menthoides* Kotschy & Boiss.

Stachys menthoides türünde yaprakta basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler dik, uzun, 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler kapitat ve uzun saplıdır. Sap kısmı 2-çok hücrelidir.



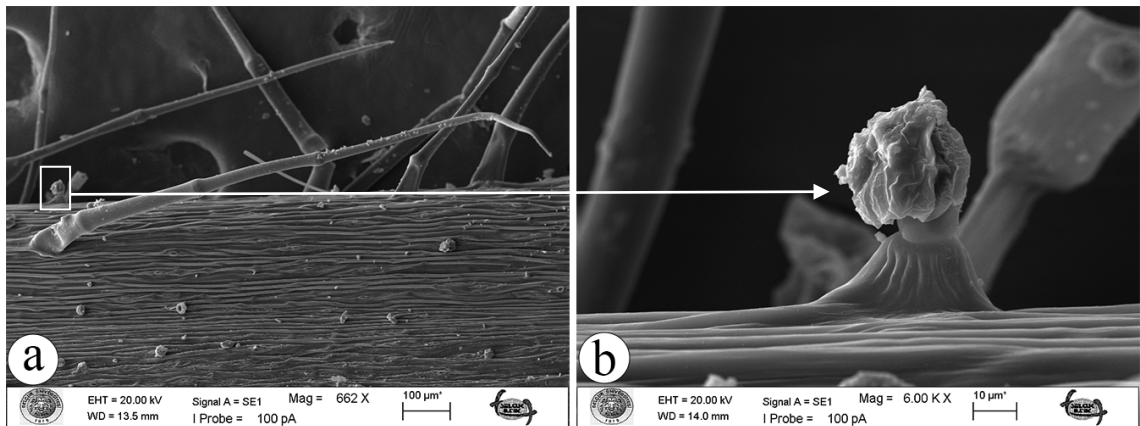
Şekil 4. 12. *Stachys menthoides* yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

Kalikte uzun-kısa basit ve salgı tüyler görülür. Basit tüyler tek hücreli veya 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler kapitat ve uzun saplıdır. Sap kısmı 2-çok hücrelidir.



Şekil 4. 13. *Stachys menthoides* kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü

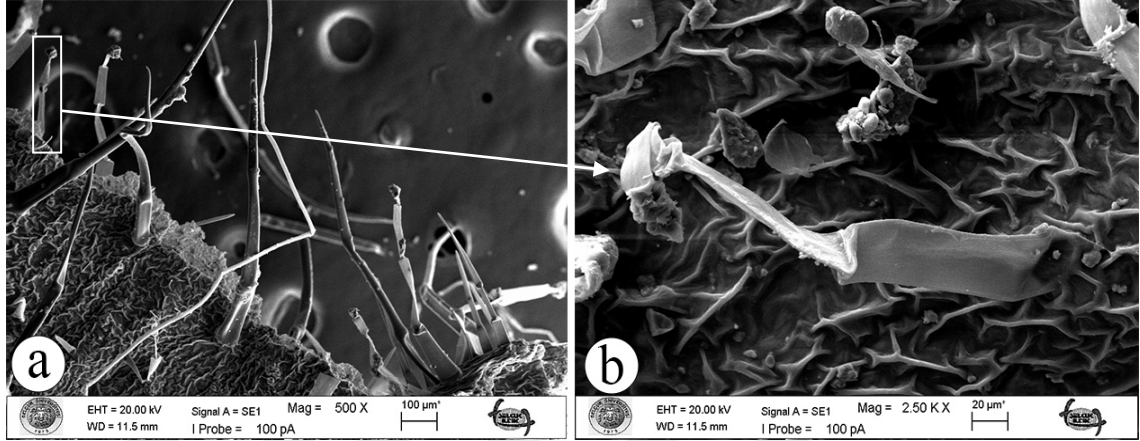
Gövdede uzun basit ve uzun-kısa saplı salgı tüyler bulunur. Basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri kapitatır. Uzun saplı salgı tüylerinde sap 2-çok hücrelidir.



Şekil 4. 14. *Stachys menthoides* gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

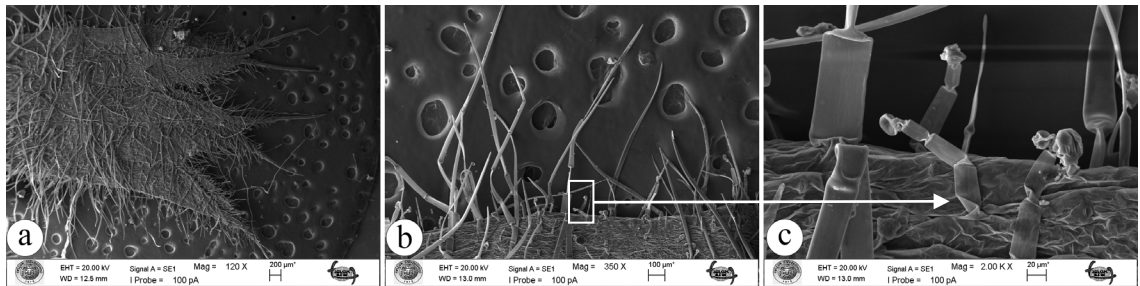
4.2.4. *Stachys setifera* C.A.Mey.

Stachys setifera subsp. *lycia* taksonunda yaprakta basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler dik, uzun, 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler uzun saplı ve kapitatır. Sap kısmı 2-çok hücrelidir.



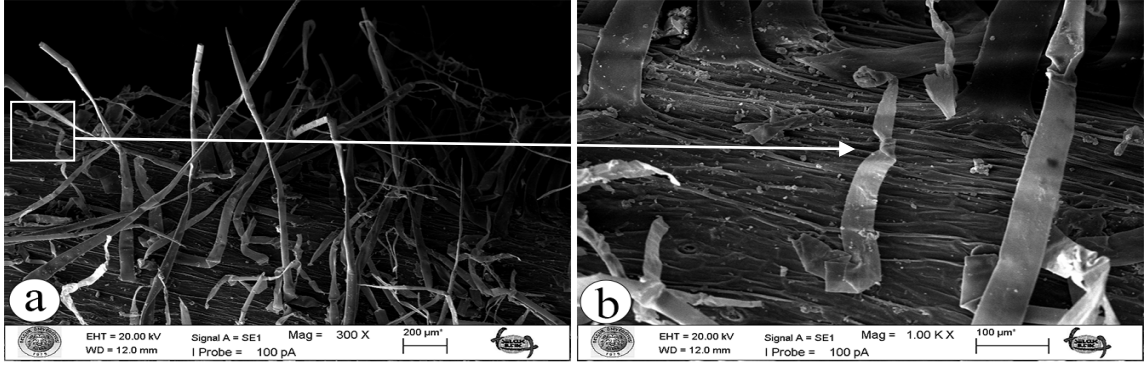
Şekil 4. 15. *Stachys setifera* subsp. *lycia* yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

Kaliks uzun basit ve kısa-uzun saplı salgı tüyleri bulunmaktadır. Basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri kapitat, uzun ve kısa saplıdır. Uzun saplı salgı tüylerinin sap kısmı 2-çok hücreden oluşmaktadır.



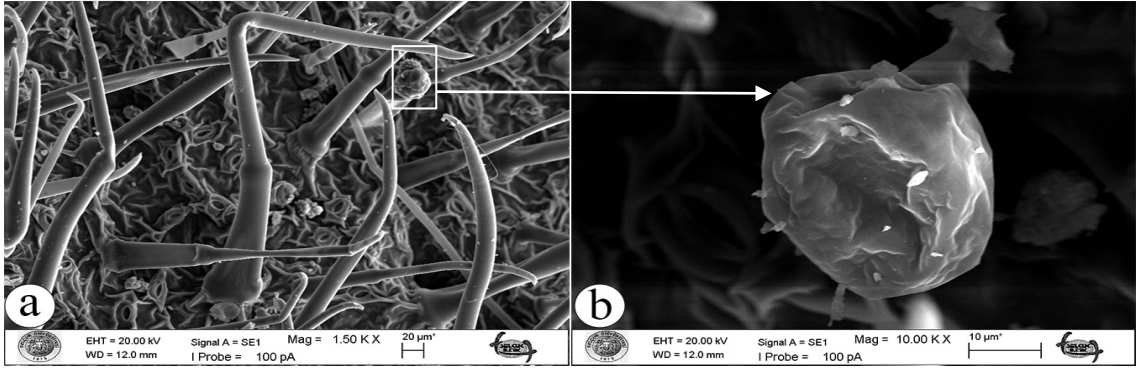
Şekil 4. 16. *Stachys setifera* subsp. *lycia* kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü

Gövdede basit ve salgı tüyler görülür. Basit tüyler yayık, uzun 2-çok hücrelidir. . Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri kapitat ve uzun saplıdır. Sap kısmı 2-çok hücrelidir.



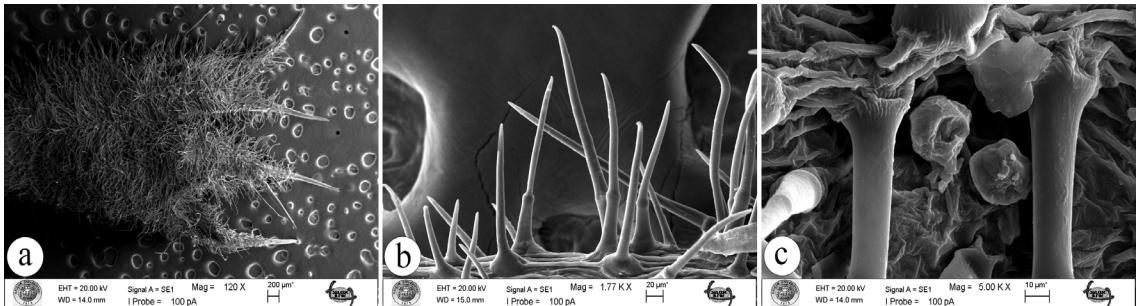
Şekil 4. 17. *Stachys setifera* subsp. *lycia* gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü

Stachys setifera subsp. *setifera* taksonunda yaprakta basit ve salgı tüyler görülmektedir. Basit tüyler dik, uzun, 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyleri kapitat ve uzun saplıdır. Sap kısmı 2-çok hücrelidir.



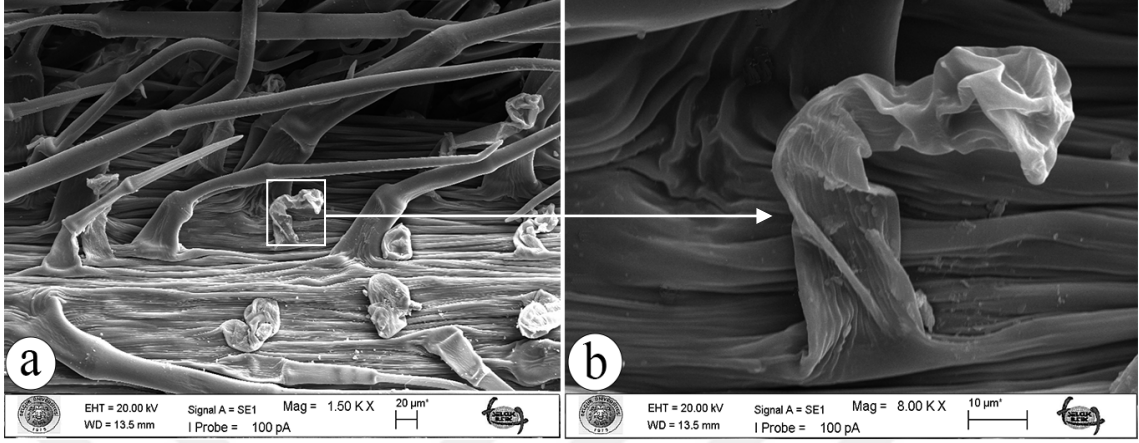
Şekil 4. 18. *Stachys setifera* subsp. *setifera* yaprak yüzeyinin SEM görüntüsü a)basit tüy b)salgı tüyü

Kalikte basit ve salgı tüyler görülür. Basit tüyler kısa tek hücreli veya uzun 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler sapsız veya kısa saplı kapitatır.



Şekil 4. 19. *Stachys setifera* subsp. *setifera* kaliks yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)basit tüy c)salgı tüyü

Gövdede basit ve salgı tüyler bulunur. Kısa ve uzun basit tüyler 2-çok hücrelidir. Tüyler uçta sivridir, tüy yüzeyi süslemesi ise düzdür. Salgı tüyler kapitat uuzun veya kısa saplıdır. Uzun salgı tüylerinde sap kısımları 2-çok hücrelidir.



Şekil 4. 20. *Stachys setifera* subps. *setifera* gövde yüzeyinin SEM görüntüsü a)genel görünümü b)salgı tüyü

4.3. Moleküler Sonuçlar

4.3.1. *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan taksonların *trnL-F* dizilerinin filogenetik analizi

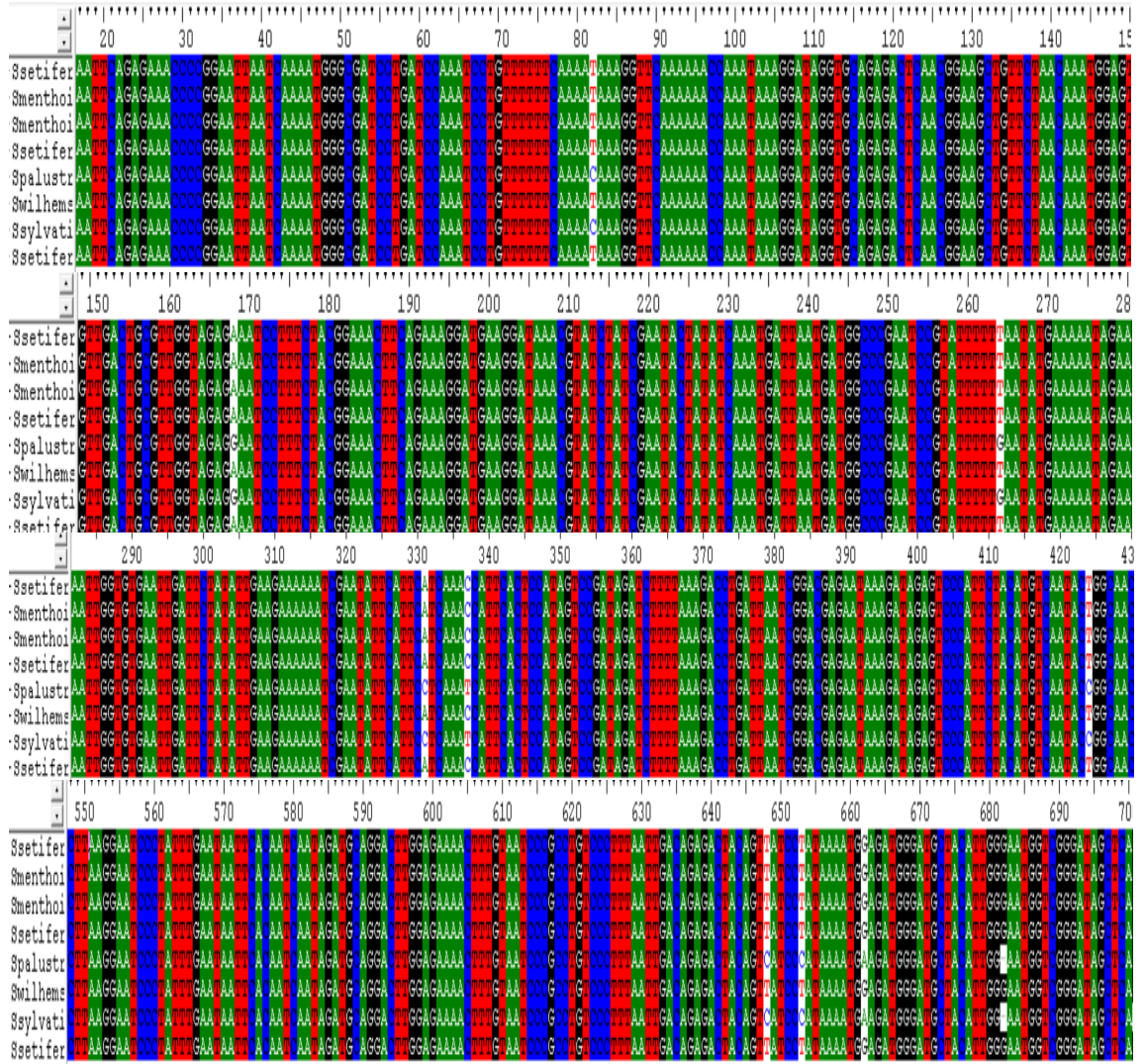
Bu tez çalışması kapsamında, Türkiye *Stachys* cinsi *Stachys* seksiyonunda yer alan *Stachys palustris* ve *Stachys sylvatica* türlerinin ve *Setifolia* seksiyonunda yer alan *Stachys setifera* subsp. *setifera*, *Stachys setifera* subsp. *lycia* ve *S. methoides* taksonlarının kloroplast genomunun *trnL-F* bölgesi dizilenmiştir. Elde edilen diziler ile Maksimum Parsimoni ve Bayesian yöntemleri kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

Bu tez çalışmasında Prof. Dr. Ekrem Akçiçek, Prof. Dr. Tuncay Dirmenci ve Doç. Dr. Özal Güner tarafından toplanan ve herbaryum materyali haline getirilen örnekler kullanılmıştır. DNA izolasyonu QIAGEN kiti ile yapılmıştır. Çalışılan türlerde kloroplast genomu *trnL-F* bölgesi (*trnL* gen ve *trnL-F* IGS bölgesi) Primer c (CGAAATCGGTAGACGCTACG) ve f (ATTTGAACTGGTGACACGAG) (Taberlet ve ark., 1991) evrensel primerleri ile çoğaltılmıştır. DNA dizilerinin elde edilmesi için ticari bir firmadan (Genoks Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi) hizmet alımı yapılmıştır. DNA dizilerinin işlenmesi için Bioedit programı kullanılmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4. 21. Bioedit programındaki *trnL-F* dizileri

Çalışılan türlerin nükleotid dizileri Bioedit programı yardımıyla hizalanmıştır (Şekil 4. 22). Kontrol edildikten sonra hizalanmış bu diziler nexus formatına dönüştürüldükten sonra PAUP* 4.0a152 ve MrBayes 3.2.7 kullanılarak filogenetik ağaçlar elde edilmiştir.

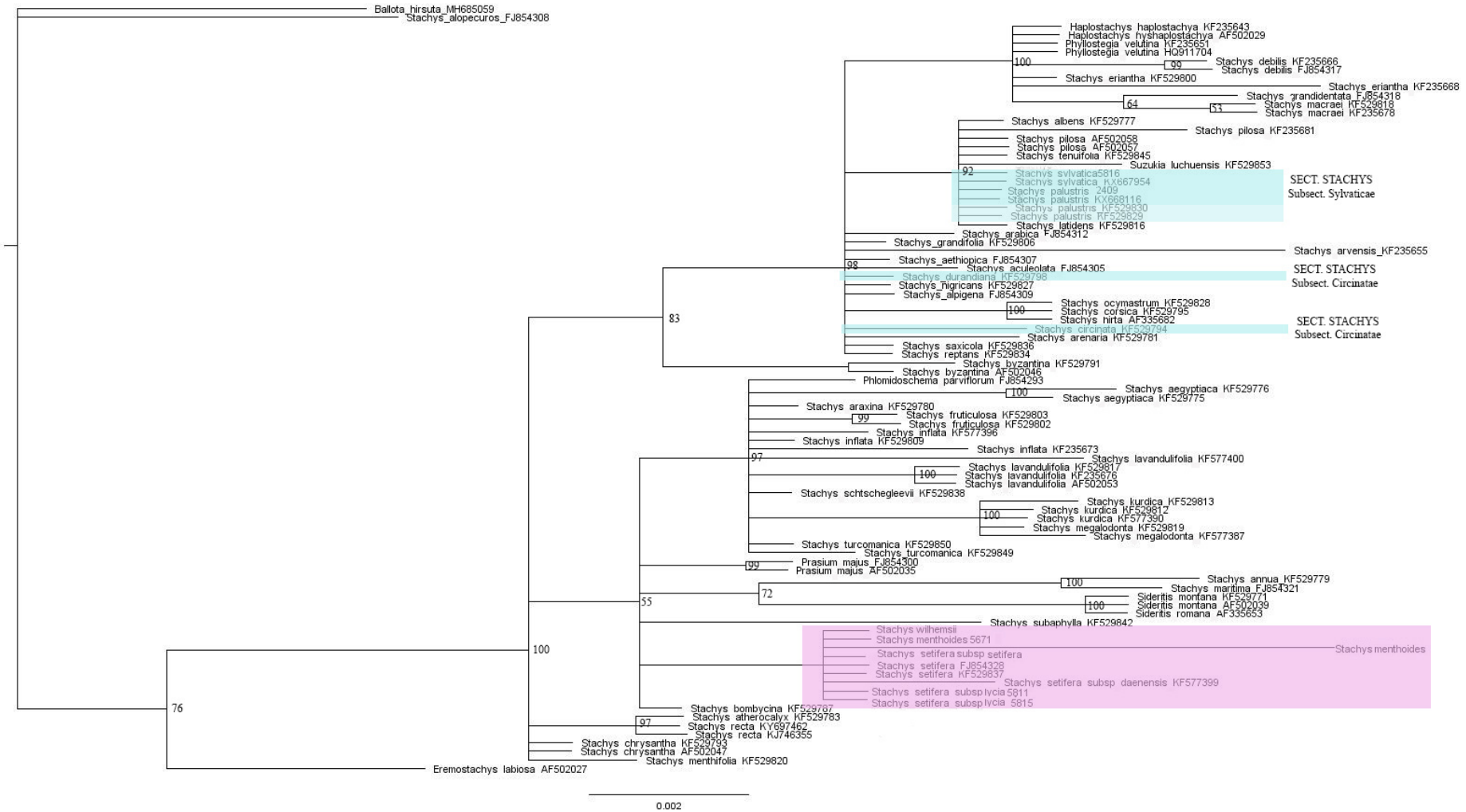


Şekil 4. 22. Bioedit programında düzenlenen *trnL-F* bölgesinin DNA dizileri

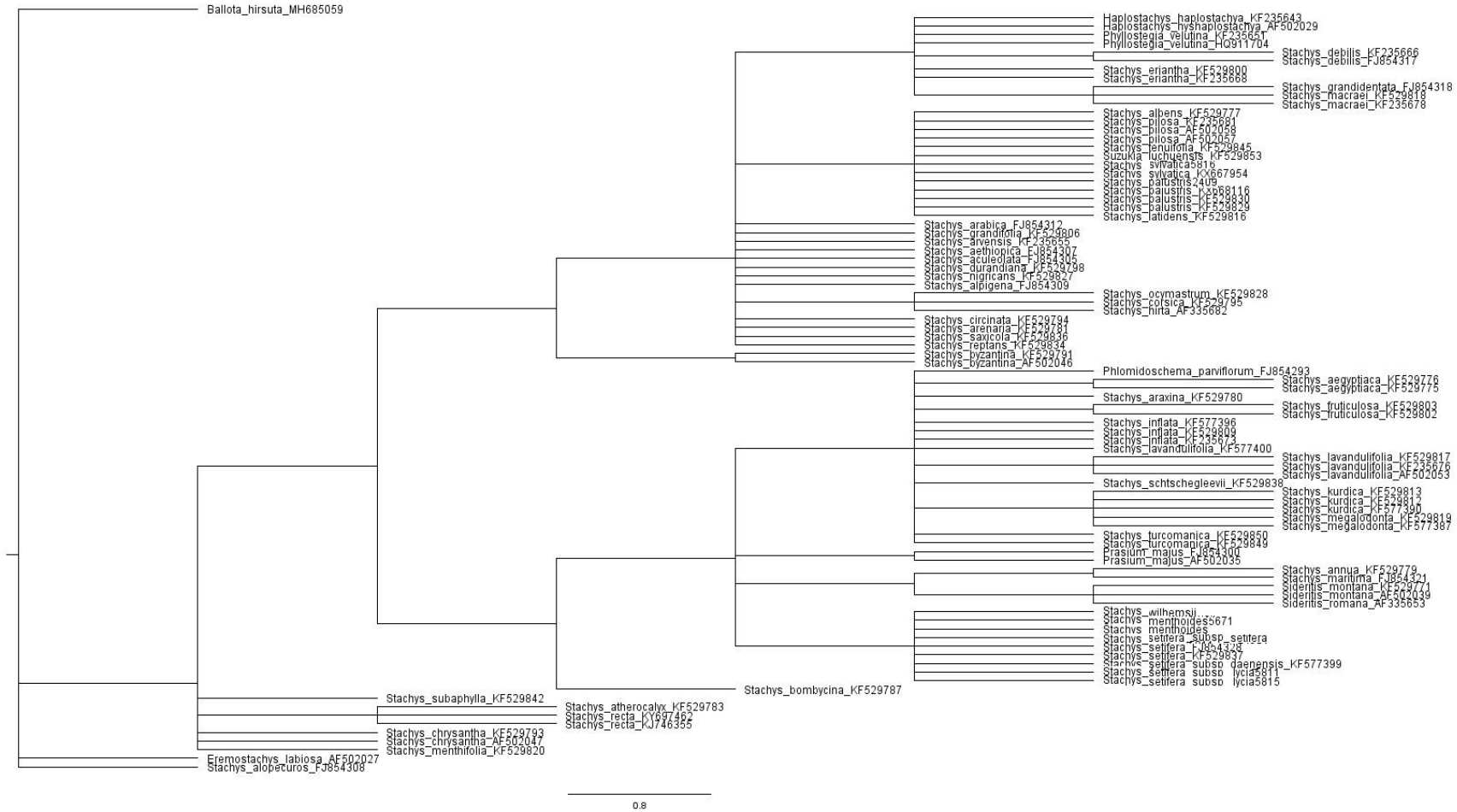
Çalışılan türlerin *trnL-F* bölgesinin toplam uzunluğu 720 bp olarak tespit edilmiştir. *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarındaki taksonların *trnL-F* bölgesinin % nükleotid içeriği Çizelge 4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4. 1. *Stachys* Cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan taksonların *trnL-F* bölgesinin % nükleotid içeriği

Takson adı	A	T	G	C
<i>Stachys setifera</i> subps. <i>lycia</i> 5811	257 %35,89	198 %27,65	132 %18,44	129 %18,02
<i>S. setifera</i> subps. <i>setifera</i> 5646	257 % 35,74	198 % 27,54	133 % 18,50	131 % 18,22
<i>S. setifera</i> subps. <i>lycia</i> 5815	256 %35,85	196 %27,45	133 %18,63	129 %18,07
<i>S. menthoides</i> 5671	257 %35,84	198 % 27,62	132 % 18,41	130 % 18,13
<i>S. menthoides</i> 5651	256 %35,85	196 %27,45	133 %18,63	129 %18,07
<i>S. palustris</i> 2409	285 % 34,38	236 % 28,47	151 % 18,21	157 % 18,94
<i>S. wilhemsei</i> 5648	257 % 35,84	198 % 27,62	132 % 18,41	130 % 18,13
<i>S. sylvatica</i> 5816	283 % 34,51	234 % 28,54	147 % 17,93	156 % 19,02



Şekil 4. 23. *Stachys* ve *Setifolia* taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Bayesian ağacı



Şekil 4. 24. *Stachys* ve *Setifolia* taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Maksimum Parsimony ağacı

Analiz sonucunda elde edilen ağacın tutarlık indeksi (CI): 0.84, koruma indeksi (RI): 0.94 ve homoplazi (türememiş karakter-analoji) indeksi (HI): 0.15'dir. Bu değerler dış gruplarla birlikte toplam 89 takson değerlendirilmesi ile 510 karakterden elde edilmiştir. Bunların 431 tanesi sabit karakter, geri kalanlardan 41 tanesi parsimonik açıdan bilgi verici olmayan değişken karakter, 38 tanesi ise parsimonik açıdan bilgi verici karakterdir.

Ballota L., *Haplostachys* (A.Gray) Hillebr., *Phyllostegia* Benth., *Suzukia* Kudô, *Phlomidioschema* Vved., *Prasium* L., *Sideritis* L. ve *Stachys* L. cinsinin türlerine ait *trnL-F* dizileri NCBI veri tabanından elde edilmiştir. Bu dizilerin NCBI numaraları EK I'de tablo halinde gösterilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında *Ballota hirsuta* Benth., *Betonica alopecuroides* L. , *Phlomidioschema labiosa* (Bunge) Adylov, Kamelin & Makhm. türleri dış grup olarak kullanılmıştır. *trnL-F* dizilerine dayalı oluşturulan Bayesian ağacında 8 ana kladın olduğu gözlenmiştir. Birinci ana dalı *Stachys* kladında yer alan türler oluşturmaktadır. Tez çalışmamız kapsamında incelenen *Stachys* cinsi *Stachys* seksiyonu *Sylvaticae* alt seksiyonunda yer alan *Stachys sylvatica* ve *S. palustris* türleri bu ana dalda yer almaktadır. *Stachys albens* A.Gray , *S. pilosa* Nutt., *S. tenuifolia* Willd., *S. sylvatica*, *S. palustris*, *S. latidens* Small, *Suzukia luchuensis* Kudô türleri aynı grupta toplanmıştır. Ancak *Stachys* seksiyonu *Circinatae* alt seksiyonunda yer alan *S. circinata* L'Hér.ve *S. durandiana* Coss. türleri farklı bir kladda yer almıştır. Salmaki ve ark. tarafından (2013) yılında yapılan çalışmada *Stachys albens*, *S. pilosa*, *S. tenuifolia* ve *S. latidens* türleri herhangi bir seksiyona yerleştirilmemiş iken yine Salmaki ve ark. tarafından (2019) yılında yapılan çalışmada bu türler *Stachys* kladında değerlendirilmiştir (Salmaki ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2019).

Sylvaticae alt seksiyonunda yer alan *S. sylvatica* ve *S. palustris* türleri morfolojik olarak birbirine benzerdir. Ancak *S. palustris* türünde gövde yaprakları şekli dikdörtgensel ila mızraksı, petiyol sapsız veya 1.5 cm'ye kadar, gövdeler geri kıvrık hispit tüylü, fındıkçık genişçe ters ovat, fındıkçık *S. sylvatica* türüne göre daha büyük (2-2.2 mm)'tür. *S. sylvatica* türünde ise gövde yaprak şekli kalpsi-yumurtamsı, petiyol 2,5 cm'den daha uzun, gövdeler salgı ve seyrek hirsut tüylü, fındıkçık genişçe ters yumurtamsı yaklaşık 2 mm kadardır.

S. sylvatica türü ülkemizin Kırklareli'den Artvin'e kadar ülkemizin kuzey kesimlerinde yayılış göstermektedir. *S. palustris* türü ise genellikle ülkemizin kuzey batı kısmında yayılış göstermektedir.

İkinci ana dalda *Eriostomum* kladında yer alan *Stachys byzantina* K.Koch. yer almaktadır. Üçüncü ana dalı *Olisia* kladında yer alan türler oluşturmaktadır. Beşince ana dal *Sideritis romana* L. ve *S. montana* L. türlerinden oluşmaktadır.

Altıncı ana dal bu tez çalışması kapsamında incelenen *Setifolia* seksiyonunda yer alan *Stachys menthoides*, *S. wilhemsei* ve *S. setifera* türlerini kapsamaktadır.

S. menthoides ülkemiz için endemik olup Van, Muş, Mardin, Hakkari bölgesinde yayılış göstermektedir. *S. wilhemsei* türü Kit Tan ile Hedge tarafından Van'ın Gülpınar ilçesinde 1988 yılında tanımlanmıştır. Orjinal betimde *Olisia* seksiyonunun *Rectae* alt seksiyonunda yer alan *S. iberica* türüne yakın olduğu belirtilmiştir. Ancak Akçiçek ve ark. tarafından 2015 yılında yapılan çalışmada *S. wilhemsei*, *S. menthoides* türüne sinonim yapılmıştır.

S. setifera, *S. menthoides*'e morfolojik yönden benzerlik gösterir. Ancak *S. menthoides* türünde çiçekli gövde ve yapraklar tüysüzdür. Çiçek düzeni durumu uzak değildir. Korolla tüpü tam olmayan annuattır. *S. setifera* türünde ise çiçekli gövde ve yapraklar kısa salgı tüy ile piloz tüylüdür. Çiçek düzeni durumu uzak korolla tüpü annulattır. Ülkemizde *S. setifera* türünün iki alt türü yayılış göstermektedir.

S. setifera subps. *lycia* taksonunda çiçekli gövdeler kısa salgı tüylü, gövde yaprakları kenarda belirgin dişli oblong ovattan oblong-eliptiğe kadar değişen şekillerde. *S. setifera* subps. *setifera* taksonunda ise çiçekli gövdeler geriye doğru piloz kısa salgı tüylü, gövde yaprak kenarları hafifçe dişli ya da düz, yaprak şekilleri dikdörtgensel ila mızraklı.

Yedinci ana dalda *Distantes* kladında yer alan *Stachys bombycina* Boiss. türü yer alır. Sekizinci ana dalda ise *Swainsoniana* kladında yer alan *Stachys menthifolia* Vis., *S. chrysanta* Boiss. & Heldr., *S. recta* L., *S. atherocalyx* K.Koch türleri yer almaktadır.

Maksimum parsimoni yöntemi ile oluşturulan filogenetik ağaçta da *Stachys* türlerinin yerleşimi Bayesian ağacındaki yerleşime benzerdir.

4.3.2. *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarında yer alan taksonların *matK* dizilerinin filogenetik analizi

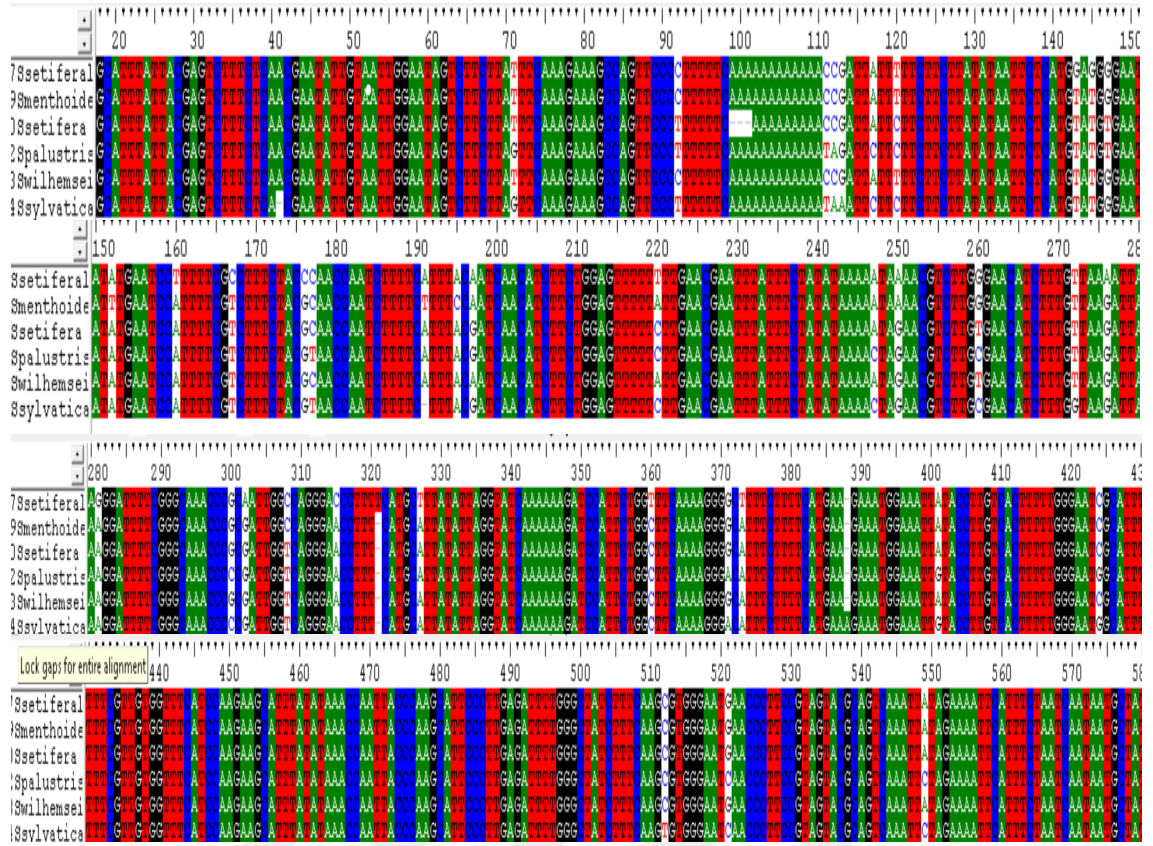
Ayrıca bu tez çalışması kapsamında, Türkiye *Stachys* cinsi *Stachys* ve *Setifolia* seksiyonlarında yer alan taksonların kloroplast genomunun *matK* gen bölgesi dizilenmiştir. Elde edilen diziler ile Maksimum Parsimoni ve Bayesian yöntemleri kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

Çalışılan türlerde kloroplast genomu *matK* bölgesi *matK*-R (5'ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3') ve *matK*-F (5'CGTACAGTAC TTTTGTGTTTACGAG-3') (K. J. Kim, unpublished) primerleri ile çoğaltılmıştır. DNA dizilerinin elde edilmesi için ticari bir firmadan hizmet alımı yapılmıştır. DNA dizilerinin işlenmesi için Bioedit programı kullanılmıştır (Şekil 4.25.).



Şekil 4. 25. Bioedit programındaki *matK* gen bölgesinin dizileri

Çalışılan türlerin nükleotid dizileri Bioedit programı yardımıyla hizalanmıştır (Şekil 4. 26). Kontrol edildikten sonra hizalanmış bu diziler nexus formatına dönüştürüldükten sonra PAUP* 4.0a152 ve MrBayes 3.2.7 kullanılarak filogenetik ağaçlar elde edilmiştir.



Şekil 4. 26. Bioedit programında düzenlenen *matK* bölgesinin DNA dizileri

Çalışılan türlerin *matK* bölgesinin toplam uzunluğu 780-790 bç olarak tespit edilmiştir. *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarındaki taksonların *matK* bölgesinin % nükleotid içeriği Çizelge 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4. 2. *Stachys* cinsi *Setifolia* ve *Stachys* seksiyonlarındaki taksonların *matK* bölgesinin % nükleotid içeriği

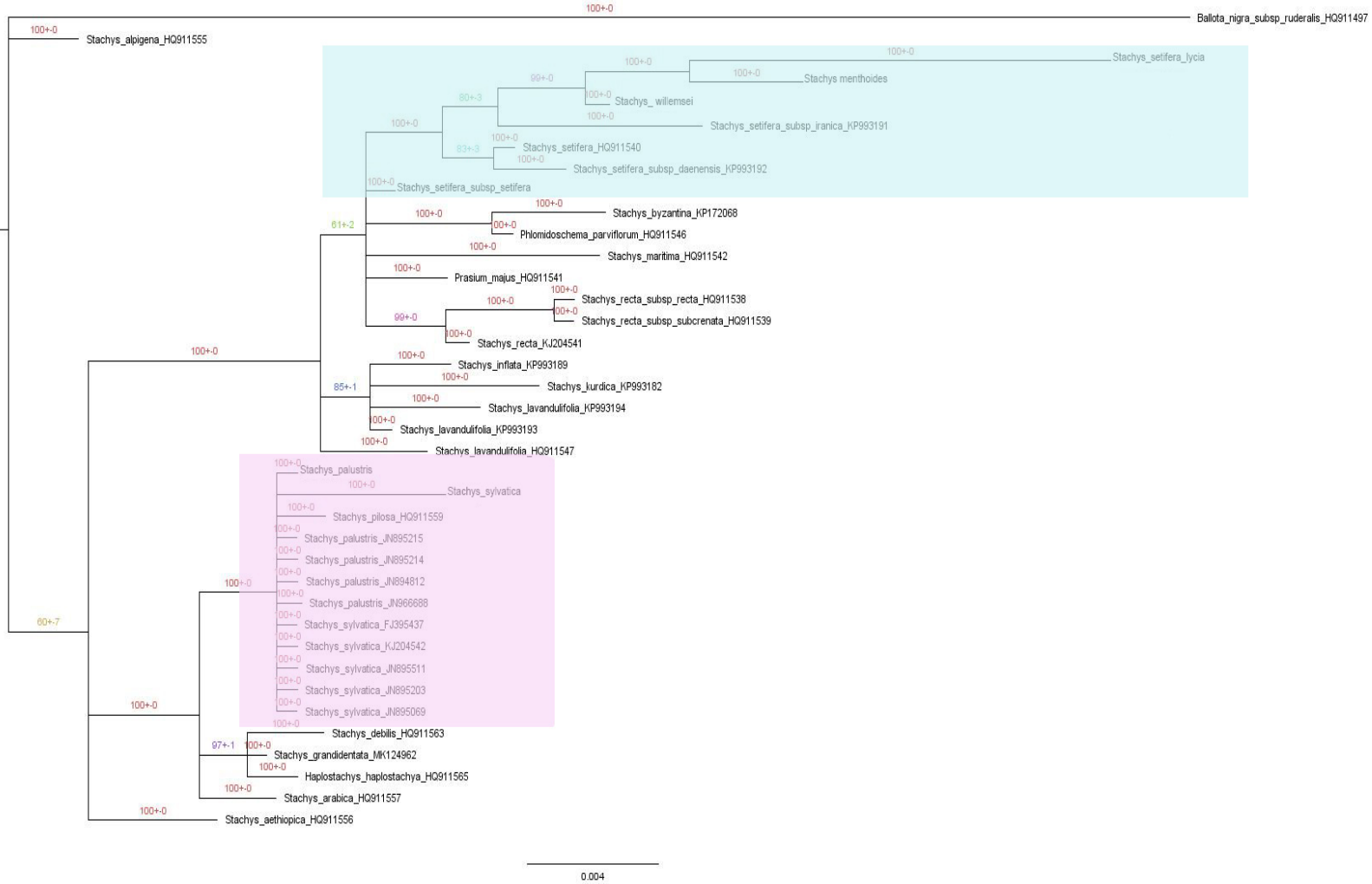
Takson adı	A	T	G	C
<i>Stachys setifera</i> subsp. <i>lycia</i> 5811	230 %29,64	279 %35,95	126 %16,24	141 %18,17
<i>S. setifera</i> subsp. <i>setifera</i> 5646	283 % 36,01	234 % 29,77	141 % 17,94	128 % 16,28
<i>S. setifera</i> subsp. <i>setifera</i> 3924b	284 %36,13	235 %29,90	140 %17,81	127 %16,16
<i>S. menthoides</i> 5651	230 %29,53	280 %35,94	127 %16,30	142 %18,23
<i>S. palustris</i> 2409	228 % 29,34	282 % 36,29	126 % 16,22	141 % 18,15
<i>S. wilhemsei</i> 5648	280 % 35,94	232 % 29,78	140 % 17,97	127 % 16,30
<i>S. sylvatica</i> 5816	235 % 29,78	283 % 35,87	129 % 16,35	142 % 18,00

Analiz sonucunda elde edilen ağacın tutarlık indeksi (CI): 0.86, koruma indeksi (RI): 0.93 ve homoplazi (türememiş karakter-analoji) indeksi (HI): 0.13'dir. Bu değerler dış gruplarla birlikte toplam 39 takson değerlendirilmesi ile 766 karakterden elde edilmiştir. Bunların 658 tanesi sabit karakter, geri kalanlardan 67 tanesi parsimonik açıdan bilgi verici olmayan değişken karakter, 41 tanesi ise parsimonik açıdan bilgi verici karakterdir.

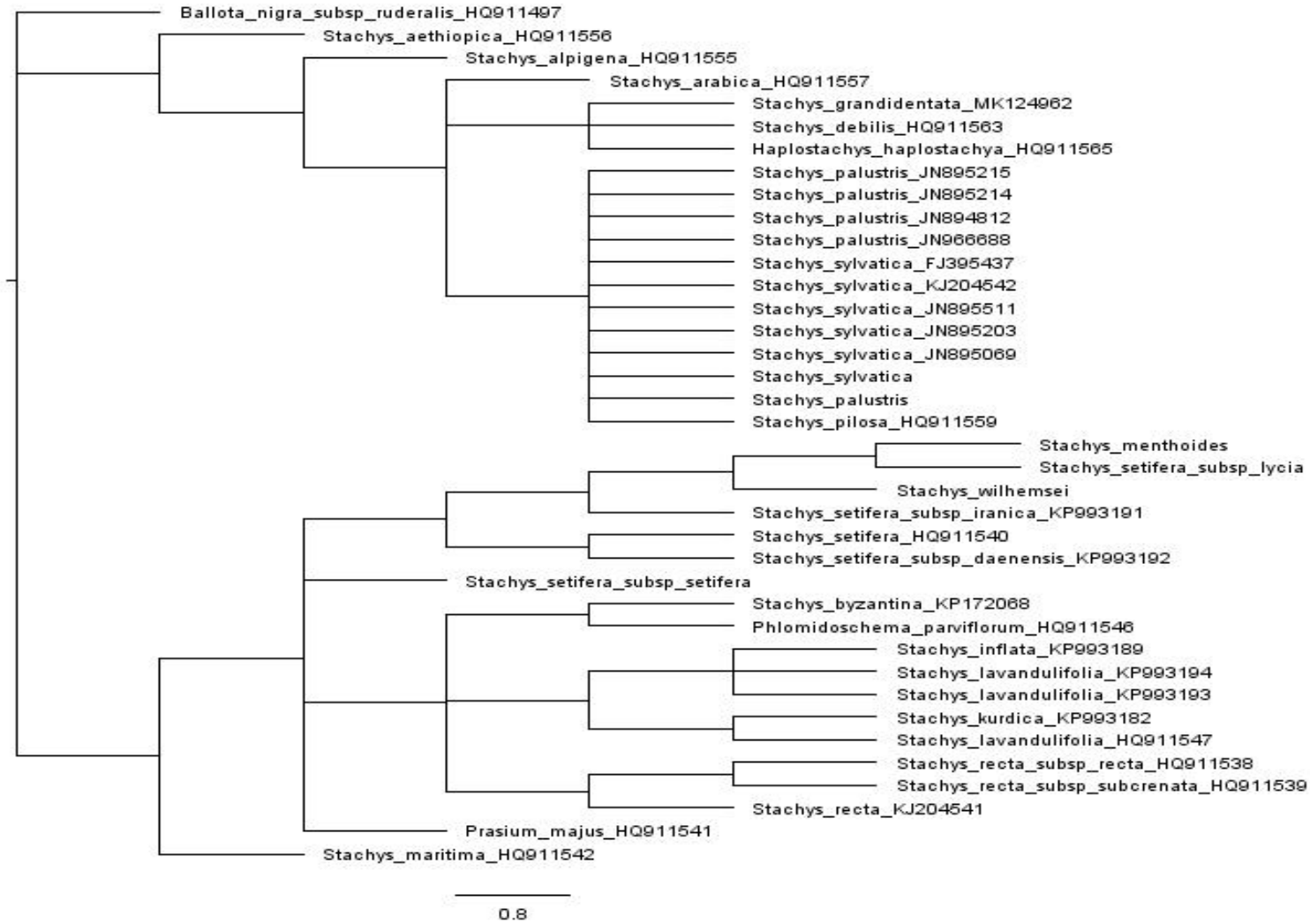
Ballota L., *Phlomidioschema* Vved., *Prasium* L., *Haplostachys* (A.Gray) Hillebr. ve *Stachys* cinsinin türlerine ait *matK* dizileri NCBI veri tabanından elde edilmiştir. Bu dizilerin NCBI numaraları EK II'de tablo halinde verilmiştir.

matK dizilerine dayalı oluşturulan Bayesian ağacında *Ballota nigra* L. türü dış grup olarak kullanılmıştır. Filogenetik ağaçta 5 ana dal oluşmuştur. Birinci ana grupta *Setifolia* seksiyonunda yer alan *Stachys setifera* subsp. *setifera*, *S. setifera* subsp. *lycia*, *S. menthoides* ve *S. wilhemsei* türleri yer almaktadır. İkinci ana dalda *Swainsoniana* kladında yer alan *Stachys recta* türü yer almaktadır.

Üçüncü ana dalda *Eriostomum* kladında yer alan *Stachys byzantina*, dördüncü ana kladda *Stachys Olisia* kladında yer alan taksonlar bulunmaktadır. Beşinci ana kladda ise *Stachys* kladında yer alan *Stachys palustris*, *S. sylvatica*, *S. pilosa*, *S. debilis* Kunth, *S. grandidentata* Lindl., *S. arabica* Hornem, *S. aethiopica* L. türleri ve *Haplostachys haplostachya* (A.Gray) H. St. John yer almaktadır.



Şekil 4. 27. *Stachys* ve *Setifolia* taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Bayesian ağacı



Şekil 4. 28. *Stachys* ve *Setifolia* taksonları arasındaki filogenetik ilişkiyi gösteren Maksimum Parsimony ağacı

Lamioideae alt familyasındaki tribusların en büyüğü olan Stachydeae taksonomik olarak zor bir tribustur (Zhu ve ark., 2022). Bu nedenle Stachydeae tribusu üzerine birçok moleküler filogenetik çalışma yapılmıştır (Lindqvist ve Albert, 2002; Lindqvist ve ark., 2003; Scheen ve ark., 2010; Bendiksby ve ark., 2011; Roy ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2013).

Lindqvist ve Albert (2002) tarafından yapılan çalışmada Kuzey America *Stachys* türlerinin filogenisi *rbcL*, *trnL* intron ve nrDNA 5S-NTS ile çalışılmıştır. Bu çalışmada *Sideritis*, *Prasium* L., *Phlomidioschema* Vved. ve Hawaii'ye özgü Labiate cinslerinin (*Haplostachys* (A. Gray) Hillebr., *Phyllostegia* Benth. ve *Stenogyne* Benth.) *Stachys* s.l. içerisinde yer aldığını gösterilmiştir. Ayrıca *Stachys* cinsinin *rbcL* analizinde, *Lamium*, *Marrubium* L., *Physostegia* Benth. ve *Gomphostemma* Wall. ex Benth. gibi diğer Lamioid cinslerle birlikte çözülmemiş bir grup olarak kaldığı ve *S. officinalis* türüne bağlı olarak cinsin polifiletik olduğu belirtilmiştir. *Stachys setifera* türünün ise *Prasium majus* türü ile %100 jackknife desteğiyle bir grup oluşturduğu görülmüştür (Lindqvist ve Albert, 2002).

Scheen ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmada *Stachys* cinsinin parafiletik olduğu belirtilerek, Asya kökenli *Chamaesphacos* Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey., *Suzukia* Kudô ve *Thuspeinanta* T. Durand cinslerinin de *Stachys* içinde yer aldığı ve monotipik cins *Melittis*'in diğer tüm *Stachydeae* cinslerine kardeş grup olduğunu gösterilmiştir (Scheen ve ark., 2010).

Lamioideae alt familyasının revize edilmiş filogenisi *trnL*-F, *rps16*, *matK* bölgeleri ile Bendiksby ve ark. (2011) tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada *Suzukia*, *Haplostachys*, *Phyllostegia*, *Stenogyne*, *Sideritis*, *Prasium* cinsleri *Stachys* cinsine ait türler ile birlikte yer almış olup *Stachys* cinsinin monofiletik olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca *Hypogomphia* cinsi de *Stachys* içerisinde yer alan cinslere eklenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında incelenen türlerden sadece *Stachys sylvatica* türü bu çalışmada yer almıştır (Bendiksby ve ark., 2011).

Roy ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan çalışmada, Hawaii'ye özgü Lamiaceae türleri ve onların Yeni Dünya *Stachys* akrabaları üzerine genişletilmiş bir filogenetik çalışma sunulmuştur. Bu çalışmada iki nükleer ribozomal (ETS ve 5S-NTS) ve iki plastid (*trnL*-*trnF*, *rps16*) DNA dizisine dayalı olarak yapılan filogenetik ağaçlar

oluşturulmuş ve türleri arasındaki akrabalık ilişkileri, taksonların kökeni ve çeşitlenmesi araştırılmıştır. Bu çalışmada Salmaki ve ark. (2013) tarafından tanımlanan SCC kladına benzer bir klad oluşmuştur. Ancak iki nükleer ribozomal DNA dizisine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta bazı tutarsızlıkların olduğu gözlenmiştir (Roy ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2013).

Salmaki ve ark. (2013) *Stachydeae* tribusunda yer alan özellikle Eski Dünya taksonları üzerine yoğunlaşarak kapsamlı bir filogenetik çalışma yapmıştır. Bu çalışmada 121 türe ait 144 aksesyonun filogenetik ilişkileri nükleer ITS, kloroplast *trnL* intron, *trnL-trnF* spacer, *rps16* intron bölgelerine dayalı olarak araştırılmıştır. Nükleer ribozomal ve plastid DNA verileri, tribusun monofiletik olduğunu ve *Melittis* L. cinsinin geriye kalan tüm *Stachydeae* taksonlarının kardeş grubu olduğunu göstermiştir (Salmaki ve ark., 2013).

Salmaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Stachys* Core Klad (SCC), *Stachydeae* içindeki ikinci en büyük monofiletik grup olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada nükleer DNA ve plastid DNA verilerine dayalı olarak oluşturulan filogenetik ağaçların topolojilerinin tutarlı olduğu belirtilmiştir (Salmaki ve ark., 2013). Morfolojik ve coğrafi olarak çeşitli türleri kapsayan bu klad, büyük ölçüde Lindqvist ve Albert (2002) tarafından tanımlanan '*Stachys sensu stricto*' kladına karşılık gelmektedir (Lindqvist ve Albert, 2002). *Stachys* Core Kladın, *Eurystachys* taksonlarının geri kalanından morfolojik olarak kolayca ayırt edilemediği ve nükleer verilere dayalı filogenetik ağaçta bu durumun gözlemlendiği belirtilmiştir (Salmaki ve ark., 2013).

Salmaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Setifolia* kladı *Stachys setifera* ve *S. menthoides* türlerini içermektedir. Bu çalışmada bu kladda yer alan türlerin uzun rizomlu ve sürünücü yapı ile karakterize edildiği belirtilmiştir (Salmaki ve ark., 2013). Bu kladda yer alan taksonlar, genellikle kumlu yüzeylerdeki akarsular boyunca yayılış göstermektedir ve ekolojik olarak cinsin diğer türlerinden farklıdır. Ayrıca dikenli çiçek yaprakları, mucronat kaliks dişleri ve kaliks tüpü kadar uzun ya da biraz daha kısa, uzunca sivrilen brakteoller ile korolla tüpünden hafifçe dışarı çıkan stamenlerle ayırt edilirler (Salmaki ve ark., 2019).

Yine Salmaki ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Eurystachys* kladının filogenetik ilişkileri 12 cinse ait 121 tür ve 148 aksesyon ile çalışılmıştır. Bu çalışmada

Stachys cinsinin birçok cinsi içine alan parafiletik bir grup olduğu ancak *Eurystachys* kladının monofiletik olduğu gösterilmiştir. Önceki çalışmalardan farklı olarak, bu çalışma da bu klad iyi desteklenmiş 12 alt klada ayrılmıştır. Bu kladlar *Eriostomum*, *Stachys*, *Prasium*, *Setifolia*, *Distantes*, *Burgsdorfia*, *Hesiodia*, *Empedoclia*, *Sideritis*, *Marrubiastrum*, *Swainsoniana* ve *Olisia* olarak adlandırılmıştır. Bunlar arasında *Sideritis* cinsinin *Burgsdorfia*, *Empedoclia* ve *Hesiodia* seksiyonları, *Sideritis* alt cinsi *Marrubiastrum* ve *Stachys* cinsinin *Eriostomum* (*Stachys mucronata* bölümü dahil) ve *Setifolia* seksiyonları bulunmaktadır (Salmaki ve ark., 2019).

Nükleer DNA dizisine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçlarda *Stachys* cinsinin *Setifolia* seksiyonunda yer alan türlerin tamamı *Setifolia* kladında toplanmıştır. Lindqvist & Albert (2002) tarafında yapılan çalışmada *Prasium majus* ve *S. setifera* türlerini içeren 'PRAS' kladı tanımlamıştır (Lindqvist ve Albert, 2002). Ancak Salmaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada bu iki takson ayrı kladlara yerleşmiştir. Yine bu çalışmada *Stachys* kladı, *Eurystachys* kladındaki en büyük monofiletik gruplardan biridir ve *Stachys* cinsinin tip türü olan *S. sylvatica* cinsini içerir. Nükleer ve plastid DNA dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçların topolojilerinde *Stachys* kladının tür bileşimi açısından tutarlı olduğu görülmüştür (Salmaki ve ark., 2013).

Stachys kladı bilinen birçok tanısallık özelliğinin önemli ölçüde örtüşmesi nedeniyle *Eurystachys* kladının geri kalanından morfolojik olarak kolayca ayırt edilemez. Daha fazla tanısallık karakterin ortaya çıkarılabilmesi için polen özellikleri, yaprak epidermisi ve yaprak anatomisi gibi ayrıntılı mikromorfolojik araştırmalara gereksinim duyulmaktadır. *Stachys* kladı Salmaki ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan nrITS verisine dayalı filogenetik ağaçta güçlü bir değerle desteklenmemiş olsada Salmaki ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yapılan çalışmada 5S-NTS, nrETS, nrITS verilerine dayalı oluşturulan ağaçta güçlü bir şekilde desteklenmiştir ve filogenetik ağaçların tutarlı olduğu görülmüştür (Salmaki ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2019).

Salmaki ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada çözilemeyen beş alt klad, 2019 yılında yapılan çalışmada güçlü bir şekilde desteklenmiştir. İlk alt klad *S. sylvatica*'nın iki aksesyonunu içermektedir. İkinci alt klad ise yedi Batı Akdeniz *Stachys* türünü (*S. arvensis* L., *S. durandiana* Coss. ve beş farklı bölümden alt klad I) kapsamaktadır. Üçüncü alt kladında Doğu Asya cinsi olan *Suzukia*'ya, üç Hawaii'ya

cinsi ve birkaç yeni dünya *Stachys* türleri yer almaktadır (Salmaki ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2019). Dördüncü alt klad Roy ve arkadaşları (2013) tarafından sunulan ağaçlarda da yer alan Yeni Dünya *Stachys* türlerini (örneğin, *S. grandidentata* Lindl., *S. lamioides* Benth.) içermektedir (Roy ve ark., 2013). Daha önce herhangi bir seksiyona atanmamış Afrika *Stachys* türleri (örneğin, *S. natalensis* Hochst., *S. nigricans* Benth.) bir alt klad oluşturmaktadır. Bu türler, diğer tropikal ve güney Afrika *Stachys* türlerinden (*Olisia* kladı) yalnızca basit tüyler taşımalarıyla, ana olarak dallanmış tüyler yerine, farklılık göstermektedirler (Salmaki ve ark., 2019).

Sonuç olarak bazı filogenetik çalışmalarda Hawaii ve Yeni Dünya *Stachys* türleri gibi belirli gruplara odaklanılmış olsa da, *Stachydeae* tribusu üzerine çoklu lokus analizlerine dayalı olarak kapsamlı filogenetik çalışmalar da gerçekleştirilmiştir (Salmaki ve ark., 2013; Salmaki ve ark., 2019). Yapılan çalışmalarda Nükleer ribozomal (nrITS) ve plastid DNA verilerinin analizleri, *Melitis*'in geri kalan *Stachydeae*'nin kardeşi olarak tribusun monofilisini doğrulamıştır. Salmaki ve arkadaşları, *Melitis* hariç tutarak *Stachydeae* tribusu içinde yer alan tüm cinsleri içeren klad için "*Eurystachys* Y. Salmaki & M. Bendiksby" filogenetik adını önermiştir. Plastid DNA belirteçleri, *Eurystachys* kladında iyi desteklenmiş bir ağaç sağlamış olsa da nrITS filogenetik ağacı nispeten zayıf desteklenmiş ve kısa dallara sahip birkaç grup ortaya çıkarmıştır (Salmaki ve ark., 2013).

Zhao ve ark. (2021) *Eurystachys* kladındaki filogenetik ilişkiler hakkında daha ayrıntılı sonuçlara ulaşmak için ek nükleer belirteçler kullanılması gerektiğini belirterek tribusun filogenisi üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada nrETS ve 5S-NTS dizileri kullanılarak bir filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Zhao ve ark., 2021)

Xue ve ark. (2023) *Stachys* cinsinin filogenisini ITS, ETS VE 5S-NTS verilerine dayalı olarak incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada *Melitis* cinsinin *Stachydeae* kladının *Eurystachys* kladına kardeş grup olduğu gösterilmiştir. *Eurystachys* kladı içerisine iki büyük klad tanımlanmıştır. İlk klad çoğunluklu olarak ılıman kuzey Amerika, Hawaii ve birkaç eski dünya taksonu içermekteyken ikinci klad sadece eski dünya taksonlarını içermektedir. Bu iki ana klad toplam on iki küçük klada ayrılmaktadır. *Eriostomum* ve *Stachys* kladları birinci büyük kladda yer alırken ikinci ana kladda *Burgsdorfia* kladı, *Distantes*, *Empedoclia*, *Hesiodia*, *Marrubiastrum*, *Olisia*, *Prasium*, *Setifolia*, *Sideritis* ve *Swainsoniana* kladları yer almaktadır (Xue ve ark., 2023). Xue ve ark. (2023)

tarafından filogenetik ağaçta *Stachys sylvatica* türü *Stachys* kladında yer almakta olup *Stachys* kladındaki ilişkiler zayıf bir şekilde çözülmüştür. Bu çalışmada *Stachys setifera* türü ise *Setifolia* kladında yer almaktadır (Xue ve ark., 2023).

Yukarıda sıralanan çalışmaların sonuçları ile bu çalışmanın sonucunu karşılaştıracak olursak Lindqvist ve Albert (2002) tarafından *rbcL*, *trnL* intron ve nrDNA 5S-NTS dizilerine daylı olarak yapılan çalışmada *Phlomidioschema*, *Haplostachys*, *Phyllostegia* cinslerine ait türler *Stachys* s.l. cinsi içerisinde yer almıştır. Bu tez çalışması kapsamında *trnL-F* ve *matK* dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçlarda da bu cinsler *Stachys* cinsi içerisinde yer almıştır. Ancak Lindqvist ve Albert (2002) tarafından yapılan çalışmada *Prasium majus* ve *Stachys setifera* türleri aynı kladda yer alırken bizim çalışmamız da bu durum desteklenmemiş olup *Stachys setifera*, *Stachys menthoides* ve *Stachys wilhemsei* taksonları kendi aralarında bir grup oluşturmuştur (Lindqvist ve Albert, 2002).

Scheen ve arkadaşları (2010) tarafından *trnL* intron, *trnL-trnF* ve *rps16* intron dizilerine dayalı yapılan filogenetik çalışmada *Suzukia* cinsinin *Stachys* cinsi içerisinde yer aldığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda bu durumu desteklemiş olup *Suzukia luchuensis* türü *Stachys* seksiyonunda yer alan türlerle aynı kladda yer almıştır (Scheen ve ark., 2010).

Salmaki ve ark. (2013) tarafından ITS dizilerine dayalı olarak yapılan filogenetik ağaçta *Stachys sylvatica* ve *S. palustris* türleri SCC kladında yer almış olup filogenetik açıdan birbirlerine yakın tür oldukları görülmektedir. Bizim çalışmamızda da bu iki türün filogenetik açıdan yakın oldukları doğrulanmış olup *trnL-F* ve *matK* dizilerine dayalı ağaçlarda bu durum açıkça gözlenmektedir (Salmaki ve ark., 2013). Salmaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *S. setifera* ve *S. menthoides* türlerinin filogenetik açıdan yakın oldukları görülmektedir. Bizim çalışmamızda *S. setifera* türüne ait daha fazla örnek kullanılmıştır. Bu türlerin filogenetik açıdan yakın oldukları bizim çalışmamızda da desteklenmiştir. Ancak *trnL-F* dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta *S. setifera*, *S. menthoides* ve *S. wilhemsei* türlerinin bulunduğu dalda politomi gözlenmiştir. Bu durum *trnL-F* bölgesinin türler arasındaki ayrışmayı kesin olarak tespit edemediğini göstermektedir (Salmaki ve ark., 2013).

Stachys sylvatica izolatı **NMW2519 maturase K (matK)** geni, kısmi cds; kloroplast
 Diz Kimliği: [JN895203.1](#) Uzunluk: 859 Ekleme Sayısı: 1

Analiz 1: 76 ile 852 [GenBank](#) [Grafikler](#) [▼ Sonraki İfade](#) [▲ 0](#)

Göl	Beklenen	Kimlikler	Boşluklar	İstik
1435 bit(7.77)	0.0	77.7/77.7(100%)	0/77.7(0%)	Artı/Artı

Sonuç 1 88ATGCTTCCTCCCTGATTTATTCAGAGCTCTTCACAGGATTTGTAATGGAGT 60
 Sbjct 76 88ATGCTTCCTCCCTGATTTATTCAGAGCTCTTCACAGGATTTGTAATGGAGT 135
 Sonuç 61 TCCTCTTATGCTCAAGAGAGGCGATTCCTCTTTTC 220
 Sbjct 136 TCCTCTTATGCTCAAGAGAGGCGATTCCTCTTTTC 195
 Sonuç 121 CTCTCTATATATATTCATATGTAATGTAATGATCCATTTTCGCTCTTCACGTAACCA 180
 Sbjct 196 CTCTCTATATATATTCATATGTAATGTAATGATCCATTTTCGCTCTTCACGTAACCA 255
 Sonuç 181 ATCTTTTCATTTACGATACATCTCTTCAGAGTTTTCCTGAGGATTTATTTCTATAT 240
 Sbjct 256 ATCTTTTCATTTACGATACATCTCTTCAGAGTTTTCCTGAGGATTTATTTCTATAT 315
 Sonuç 241 AAAAGCTAGAGCTCTTCGAGAGCTCTTGTATAGAGTTTTCAGAGAGAGAGAGAGAG 300
 Sbjct 316 AAAAGCTAGAGCTCTTCGAGAGCTCTTGTATAGAGTTTTCAGAGAGAGAGAGAGAG 375
 Sonuç 381 ATTTGCTAGAGAGAGCTCTTCATGATTTATTTAGATATCAAGAGAGATCCATTCAGCTTC 360
 Sbjct 376 ATTTGCTAGAGAGAGCTCTTCATGATTTATTTAGATATCAAGAGAGATCCATTCAGCTTC 435
 Sonuç 361 AAAAGAGAGAGAGCTCTTCATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 420
 Sbjct 436 AAAAGAGAGAGAGCTCTTCATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 495
 Sonuç 421 GCATTTTTCGTTGAGTTTCATCCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 480
 Sbjct 496 GCATTTTTCGTTGAGTTTCATCCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 555
 Sonuç 481 CCTTGAAGATTTTGGGCTATCTTCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 540
 Sbjct 556 CCTTGAAGATTTTGGGCTATCTTCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 615
 Sonuç 541 AATCTAGAGAGAGCTCTTCATGATTTATTTAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 600
 Sbjct 616 AATCTAGAGAGAGCTCTTCATGATTTATTTAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 675
 Sonuç 601 AATTTATTTCTGATTTGCGCTATTGGCTAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 660
 Sbjct 676 AATTTATTTCTGATTTGCGCTATTGGCTAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 735
 Sonuç 661 CGTTAGTAGAGAGAGCTCTTCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 720
 Sbjct 736 CGTTAGTAGAGAGAGCTCTTCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 795
 Sonuç 721 TATATGAGAGAGAGCTCTTCAGATTTATCATAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 777
 Sbjct 796 TATATGAGAGAGAGCTCTTCAGATTTATCATAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG 852

Şekil 5. 1. *Stachys palustris* ve *S. sylvatica* türlerinin *trnL-F* ve *matK* dizilerinin NCBI programı ile karşılaştırılması

Ayrıca tez çalışmamız kapsamında sekanslanan *Stachys setifera* subsp. *setifera*, *S. setifera* subsp. *lycia*, *S. menthoides*, *S. willhemsei* taksonlarının *trnL-F* dizisi %100 uyum göstermektedir. Bu nedenle *trnL-F* bölgesi bu grubun filogenetik ilişkilerini çözmek için uygun bir DNA barkod bölgesi değildir. Ancak *Stachys setifera* subsp. *setifera* ve *S. setifera* subsp. *lycia* taksonlarının ayırımında *matK* dizilerinin daha uygun bir DNA barkod bölge olduğu görülmüştür.

NCBI veritabanında yer alan *matK* dizileri incelendiğinde *Stachys palustris* (JN96688.1, JN895215.1, JN895214.1, JN894812.1) ve *S. sylvatica* (KJ204542.1, FJ395437.1, JN89172.1, JN895511.1, JN895203.1, JN895069.1) türlerinin *matK* dizilerinin %100 uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak bizim çalışmamızda kullanılan *Stachys palustris* türü bu diziler ile %100 uyum gösterirken yine bizim çalışmamızda kullanılan *S. sylvatica* türü bu dizilerden 4-5 nükleotit farklılık göstermektedir. Bu durumun açıklığa kavuşturulabilmesi için *Stachys sylvatica* ve *S. palustris* türlerinden daha fazla örnek kullanılarak karşılaştırmalar yapılmalıdır.

Tez projesi kapsamında *matK* gen bölgesi ve *trnL-F* dizileri kullanılarak Maksimum Parsimoni ve Bayesian yöntemleri ile filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. *trnL-F* dizilerine dayalı olarak oluşturulan filogenetik ağaçlarda *Stachys* cinsinin monofiletik olmadığı doğrulanmıştır. Ancak *Stachys* cinsi *Setifolia* seksiyonunda yer alan türler monofiletik bir grup oluşturmuştur. *Stachys* cinsi *Stachys* seksiyonunda yer

alan *S. sylvatica* ve *S. palustris* türleri ise *Stachys albens*, *S. pilosa*, *S. tenuifolia*, *S. latidens*, *Suzukia luchuensis* türleri ile bir grup oluşturmuştur.

Stachydeae tribusu taksonomik ve filogenetik açıdan zor bir tribustur. Bu tribusta yer alan cinslerin parafiletik olması, türlerin önemli fenotipik esneklik göstermesi, bir dizi ploidi seviyelerinin görülmesi ve sık doğal melezleşme olaylarının gerçekleşmesi tribusun filogenetik ilişkilerinin çözülmesini zorlaştırmaktadır. Salmaki ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada *Stachys* kladının nrITS dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta güçlü bir değerle desteklenmediği belirtilmiştir (Salmaki ve ark., 2013). Ancak 2019 yılında yapılan çalışmada 5S-NTS, nrETS, nrITS verilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçta daha iyi bir çözülme görülmüştür (Salmaki ve ark., 2019).

Eurystachys kladındaki filogenetik ilişkilerinin aydınlatılabilmesi için de daha fazla DNA dizisinin kullanılması gerekmektedir. Ayrıca anatomi (yaprak, gövde vb.), tüy özellikleri, mikromorfoloji, palinoloji, sitoloji ve kemotaksonomi gibi daha fazla özelliğinin eklenmesi bu tribusun filogenetik akrabalık ilişkilerinin çözülmesinde katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akcicek, E., Dündar, E. ve Çelenk, S., 2010, Türkiye'de yetişen *Stachys* L. cinsi *Eriostomum* (Hoffmanns.& Link) Dumort. (Lamiaceae) seksiyonu revizyonu.
- Akcicek, E., Fırat, M. ve Güner, Ö., 2016, *Stachys hakkariensis* (Lamiaceae), a new species from eastern Anatolia (Turkey) belonging to *Stachys* sect. *Olisia*, *Phytotaxa*, 257 (2), 167-173.
- Akcicek, E., 2020, Taxonomic revision of *Stachys* sect. *Olisia* (Lamiaceae: Lamioideae) in Turkey, *Phytotaxa*, 449 (2), 109-148.
- Akcicek, E. ve Güner, Ö., 2022, A new subspecies of *Stachys cretica* (Lamiaceae) from western Turkey, *Phytotaxa*, 539 (3), 257-264.
- Akçiçek, E., 2012, *Stachys*, In: Türkiye Bitkileri Listesi, Eds: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, T., *İstanbul: ANG Vakfı*, p.
- Akçiçek, E., Dirmenci, T., Kılıç, T., Çelenk, S. ve Dündar, E., 2015, Türkiye'de Yetişen *Stachys* L.(*Setifolia*, *Stachys*, *Fragilicaulis* ve *Olisia* Seksiyonları)(Lamiaceae) Türlerinin Taksonomik Revizyonu.
- Altundag, E. ve Ozturk, M., 2011, Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- Bendiksby, M., Thorbek, L., Scheen, A.-C., Lindqvist, C. ve Ryding, O., 2011, An updated phylogeny and classification of Lamiaceae subfamily Lamioideae, *Taxon*, 60 (2), 471-484.
- Bendiksby, M., Salmaki, Y., Bräuchler, C. ve Ryding, O., 2014, The generic position of *Stachys tibetica* Vatke and amalgamation of the genera *Eriophyton* and *Stachyopsis* (Lamiaceae subfam. Lamioideae), *Plant Systematics and Evolution*, 300, 961-971.
- Berumen Cornejo, A. M., Lindqvist, C., Perez Molphe Balch, E. M. ve Siqueiros Delgado, M. E., 2017, Phylogeny of the *Stachys coccinea* (Lamiaceae) complex based on molecular and morphological data, *Systematic Botany*, 42 (3), 484-493.
- Bhattacharjee, R., 1982, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *Stachys* L, 7, 199-262.
- Celep, F. ve Dirmenci, T., 2017, Systematic and biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey, *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4 (4), 14-27.
- Cooper, G. M., Hausman, R. E., Sakızlı, M. ve Atabey, N., 2006, Hücre: moleküler yaklaşım, İzmir Tıp Kitabevi, p.
- Çatak, E. ve Atalay, A., 2022, Lamiaceae (Labiatae)(Ballıbabagiller) Familyası'nın Ekonomik Ve Tıbbi Değerleri, *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 9 (20), 150_157-150_157.
- Dirmenci, T., Yıldız, B., Akçiçek, E., Martin, E. ve Dündar, E., 2011, *Stachys vuralii* (Lamiaceae), a new species from north Anatolia, Turkey, *Annales Botanici Fennici*, 401-408.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L. ve Zhou, S., 2012, Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding, *PloS one*, 7 (4), e35071.
- Dündar, E., Akçiçek, E., Dirmenci, T. ve Akgün, Ş., 2013, Phylogenetic analysis of the genus *Stachys* sect. *Eriostomum* (Lamiaceae) in Turkey based on nuclear ribosomal ITS sequences, *Turkish Journal of Botany*, 37 (1), 14-23.
- El Beyrouthy, M., Arnold-Apostolides, N. ve Dupont, F., 2009, Trichomes morphology of six Lebanese species of *Stachys* (Lamiaceae), *Flora Mediterranea*, 19, 129-139.

- Erdoğan, E., 2011, Türkiye'de yetişen *Stachys* L.(Lamiaceae) cinsine ait *Germanicae* R. Bhattacharjee subseksiyonu taksonlarının morfolojik, anatomik ve ekolojik özelliklerinin incelenmesi.
- Erkan, D. T. ve Dülger, B., 2016, *Stachys thirkei* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Araştırmalar, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4 (3), 886-893.
- Gerçek, Y. C., Şahin, A. A., Bayram, N. E., Çelik, S., Sefalı, A., Gıdık, B., Öz, G. C. ve Pınar, N. M., 2022, Anatomy, trichome micromorphology and phytochemical profile of *Stachys rizeensis* R. Bhattacharjee from Turkey, *South African Journal of Botany*, 149, 19-28.
- Grujić, S., Duletić-Lausević, S., Džamić, A. ve Marin, P., 2014, Anatomy and trichome micromorphology of *Stachys scardica* (Griseb.) Hayek (Lamiaceae), *Archives of Biological Sciences*, 66 (3), 1217-1226.
- Güner, A. ve Aslan, S., 2012, Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler), Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, p.
- Güner, Ö. ve Akçiçek, E., 2015, Türkiye florası için yeni bir kayıt: *Stachys megalodanta* Hausskn. & Bornm. ex PH Davis subsp. *megalodanta* Lamiaceae, *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 2 (2), 27-32.
- Güner, Ö., 2016, Türkiye'de yetişen *Stachys* L.(Lamiaceae) cinsine ait *Fragilicaulis* R. Bhattacharjee seksiyonunun taksonomik revizyonu ve moleküler filogenetik analizi.
- Güner, Ö., Selvi, S., Altınordu, F. ve Martin, E., 2019, The analysis of some biological data on *Stachys kurdica* (Lamiaceae) in Turkey, *Phytologia Balcanica*, 25 (3).
- Güner, Ö., Akcicek, E. ve Dirmenci, T., 2021, A new *Stachys* species from Turkey: *Stachys siirtensis* (Lamiaceae), *Phytotaxa*, 516 (3), 252-262.
- Güner, Ö. ve Akçiçek, E., 2022, Morphological and micromorphological studies on *Stachys benthamiana* Boiss.(Lamiaceae), *Acta Biologica Turcica*, 35 (4), 10-11-15.
- Güner, Ö., Özdöl, T. ve Yıldırım, H., 2023, A New Rupicolous Species from West of Türkiye: *Stachys cuhacioglu* (Lamiaceae), *Türler ve Habitatlar*, 4 (2), 98-109.
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R., Harley, M. M., De Kok, R. d., Krestovskaja, T. d. ve Morales, R., 2004, Labiatae, In: Flowering plants· Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae), Eds: Springer, p. 167-275.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S. ve De Waard, J. R., 2003, Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270 (suppl_1), S96-S99.
- İpek, H. O., 2018, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryum'undaki (ANK) *Salvia* (Lamiaceae) Cinsinin Revizyonu, *Ankara Üniversitesi (Turkey)*.
- İşcan, G., Köse, Y. ve Demirci, B., 2015, *Stachys rupestris* (Lamiaceae)'in uçucu yağ bileşimi ve antimikrobiyal etkileri, *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 4 (1), 41-47.
- Karaismailoğlu, M. C. ve Güner, Ö., 2021, Trichome micromorphology of the genus *Stachys* sect. *Fragilicaulis* subsect. *Fragilis* and its taxonomic implications, *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155 (4), 833-847.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A. ve Öner, C., 2009, Genetik kavramlar, Palme Yayıncılık, p.

- Li, H., Xiao, W., Tong, T., Li, Y., Zhang, M., Lin, X., Zou, X., Wu, Q. ve Guo, X., 2021, The specific DNA barcodes based on chloroplast genes for species identification of Orchidaceae plants, *Scientific Reports*, 11 (1), 1424.
- Lindqvist, C. ve Albert, V. A., 2002, Origin of the Hawaiian endemic mints within north American Stachys (Lamiaceae), *American Journal of Botany*, 89 (10), 1709-1724.
- Lindqvist, C., Motley, T. J., Jeffrey, J. J. ve Albert, V. A., 2003, Cladogenesis and reticulation in the Hawaiian endemic mints (Lamiaceae), *Cladistics*, 19 (6), 480-495.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. ve Stahl, D., 2017, Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi, (çev. C. Çökmüş), *Ondördüncü Baskı*, Ankara: Palme Yayıncılık, 40-522.
- Mamadaliyeva, N. Z., Youssef, F. S., Ashour, M. L., Sasmakov, S. A., Tiezzi, A. ve Azimova, S. S., 2019, Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of three Uzbek Lamiaceae species, *Natural product research*, 33 (16), 2394-2397.
- Martin, E., Çetin, Ö., Akcicek, E. ve Dirmenci, T., 2011, New chromosome counts of genus Stachys (Lamiaceae) from Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 35 (6), 671-680.
- Martin, E., Altınordu, F., Güner, Ö. ve Akçiçek, E., 2016, Karyological studies of six endemic species of Stachys (Lamiaceae) subsect. Fragiles from Turkey, *Cytologia*, 81 (2), 231-236.
- Matiz-Ceron, L., Reyes, A. ve Anzola, J., 2022, Taxonomical evaluation of plant chloroplastic markers by bayesian classifier, *Frontiers in Plant Science*, 12, 782663.
- NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=stachys>.
- Quattrocchi, U., 2000, CRC world dictionary of plant names volume I CRC press Boca Raton, New York, 91.
- Ramos da Silva, L. R., Ferreira, O. O., Cruz, J. N., de Jesus Pereira Franco, C., Oliveira dos Anjos, T., Cascaes, M. M., Almeida da Costa, W., Helena de Aguiar Andrade, E. ve Santana de Oliveira, M., 2021, Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Roy, T., Chang, T.-H., Lan, T. ve Lindqvist, C., 2013, Phylogeny and biogeography of New World Stachydeae (Lamiaceae) with emphasis on the origin and diversification of Hawaiian and South American taxa, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69 (1), 218-238.
- Sadeghi, H., Rostamzadeh, D., Panahi Kokhdan, E., Asfaram, A., Doustimotlagh, A. H., Hamidi, N. ve Hossein, S., 2022, Stachys pilifera Benth: a review of its Botany, phytochemistry, therapeutic potential, and toxicology, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022 (1), 7621599.
- Salmaki, Y., Zarre, S., Jamzad, Z. ve Bräuchler, C., 2009, Trichome micromorphology of Iranian Stachys (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication, *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 204 (5), 371-381.
- Salmaki, Y., Zarre, S., Govaerts, R. ve Bräuchler, C., 2012, A taxonomic revision of the genus Stachys (Lamiaceae: Lamioideae) in Iran, *Botanical Journal of the linnean Society*, 170 (4), 573-617.
- Salmaki, Y., Zarre, S., Ryding, O., Lindqvist, C., Bräuchler, C., Heubl, G., Barber, J. ve Bendiksby, M., 2013, Molecular phylogeny of tribe Stachydeae (Lamiaceae

- subfamily Lamioideae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69 (3), 535-551.
- Salmaki, Y., Bendiksby, M. ve Heubl, G., 2015, Molecular phylogeny confirms the placement of enigmatic *Stachys persepoltana* in *Lamium* (Lamiaceae; subfam. Lamioideae), *Phytotaxa*, 4, 254-266.
- Salmaki, Y., Heubl, G. ve Weigend, M., 2019, Towards a new classification of tribe Stachydeae (Lamiaceae): naming clades using molecular evidence, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 190 (4), 345-358.
- Satıl, F., Kaya, A., Akçiçek, E. ve Dirmenci, T., 2012, Nutlet micromorphology of Turkish *Stachys* sect. *Eriostomum* (Lamiaceae) and its systematic implications, *Nordic Journal of Botany*, 30 (3), 352-364.
- Satıl, F. ve Açar, M., 2020, Ethnobotanical use of *Stachys* L. (Lamiaceae) taxa in Turkey, *International Journal of Nature and Life Sciences*, 4 (2), 66-86.
- Scheen, A.-C., Bendiksby, M., Ryding, O., Mathiesen, C., Albert, V. A. ve Lindqvist, C., 2010, Molecular phylogenetics, character evolution, and suprageneric classification of Lamioideae (Lamiaceae) 1, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 97 (2), 191-217.
- Simpson, M. G., Aytaç, Z. ve İğci, B. K., 2012, Bitki sistematiği, Nobel yayıncılık p.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. ve Bouvet, J., 1991, Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA, *Plant molecular biology*, 17, 1105-1109.
- Tamokou, J. D. D., Mbaveng, A. ve Kuete, V., 2017, Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables, In: Medicinal spices and vegetables from Africa, Eds: Elsevier, p. 207-237.
- Tomou, E.-M., Barda, C. ve Skaltsa, H., 2020, Genus *Stachys*: A review of traditional uses, phytochemistry and bioactivity, *Medicines*, 7 (10), 63.
- Tundis, R., Peruzzi, L. ve Menichini, F., 2014, Phytochemical and biological studies of *Stachys* species in relation to chemotaxonomy: A review, *Phytochemistry*, 102, 7-39.
- Will, M., Schmalz, N. ve Classen-Bockhoff, R., 2015, Towards a new classification of *Salvia* sl:(re) establishing the genus *Pleudia* Raf, *Turkish Journal of Botany*, 39 (4), 693-707.
- Xue, L., Cai, J.-H., Zhan, M., Li, X.-P., Wu, L. ve Chen, Y.-P., 2023, Molecular and morphological evidence for a new species of *Stachys* (Lamiaceae) from Hunan, China, *PhytoKeys*, 236, 121.
- Zhao, F., Chen, Y.-P., Salmaki, Y., Drew, B. T., Wilson, T. C., Scheen, A.-C., Celep, F., Bräuchler, C., Bendiksby, M. ve Wang, Q., 2021, An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics, *BMC biology*, 19, 1-27.
- Zhu, S., Liu, Q., Qiu, S., Dai, J. ve Gao, X., 2022, DNA barcoding: an efficient technology to authenticate plant species of traditional Chinese medicine and recent advances, *Chinese Medicine*, 17 (1), 112.

EKLER**EKI.** Kullanılan türlere ait *trnL*-F dizilerininin NCBI numaraları

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Ballota hirsuta</i> subsp. <i>saharica</i> (Diels) Greuter & Burdet	Siadati, S. ve ark. (2019)	MH685059
<i>Haplostachys haplostachya</i> (A.Gray) H.St.John	Roy, T ve ark. (2013)	KF235643
<i>Haplostachys haplostachya</i> (A.Gray) H.St.John	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502029
<i>Phyllostegia velutina</i> (Sherff) H.St.John	Bendiksby, M. ve ark.(2011)	HQ911704
<i>Phyllostegia velutina</i> (Sherff) H.St.John	Roy, T ve ark. (2013)	KF235651
<i>Suzukia luchuensis</i> Kudô	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529853
<i>Phlomidioschema parviflorum</i> (Benth.) Vved.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854293
<i>Prasium majus</i> L.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854300
<i>Prasium majus</i> L.	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502035
<i>Sideritis montana</i> L.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529771
<i>Sideritis montana</i> L.	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502039
<i>Sideritis romana</i> L.	Barber, JC ve ark. (2002)	AF335653
<i>Stachys alopecuroides</i> (L.) Benth.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854308
<i>Stachys debilis</i> Kunth	Roy, T. ve ark. (2013)	KF235666
<i>Stachys debilis</i> Kunth	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854317
<i>Stachys eriantha</i> Benth.	Roy, T. ve ark. (2013)	KF235668
<i>Stachys eriantha</i> Benth.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529800
<i>Stachys grandidentata</i> Lindl.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854318
<i>Stachys macraei</i> Benth.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529818
<i>Stachys macraei</i> Benth.	Roy, T. ve ark. (2013)	KF235678
<i>Stachys albens</i> A.Gray	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529777
<i>Stachys pilosa</i> Nutt.	Roy, T. ve ark. (2013)	KF235681

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Stachys pilosa</i> Nutt.	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502057
<i>Stachys pilosa</i> Nutt.	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502058
<i>Stachys tenuifolia</i> Willd.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529645
<i>Stachys sylvatica</i> L.	Kowalczyk, R. ve ark.(2017)	KX667954
<i>Stachys palustris</i> L.	Kowalczyk, R. ve ark.(2017)	KX668116
<i>Stachys palustris</i> L.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529829
<i>Stachys palustris</i> L.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529830
<i>Stachys latidens</i> Small	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529816
<i>Stachys arabica</i> Hornem.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854312
<i>Stachys grandifolia</i> E.Mey.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529806
<i>Stachys arvensis</i> L.	Roy, T. ve ark. (2013)	KF235655
<i>Stachys aethiopica</i> L.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854307
<i>Stachys aculeolata</i> Hook.f.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854305
<i>Stachys durandiana</i> Coss.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529798
<i>Stachys nigricans</i> Benth.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529827
<i>Stachys alpigena</i> T.CEFR.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854309
<i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529828
<i>Stachys corsica</i> Pers.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529795
<i>Stachys hirta</i> L.	Barber, JC. (2006)	AF335682
<i>Stachys circinata</i> L'Hér.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529794
<i>Stachys arenaria</i> Vahl	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529781
<i>Stachys saxicola</i> Coss. ve Balansa	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529836
<i>Stachys reptans</i> Hedge	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529834
<i>Stachys byzantina</i> K.Koch	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502046
<i>Stachys byzantina</i> K.Koch	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529791
<i>Stachys aegyptiaca</i> Pers.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529775
<i>Stachys aegyptiaca</i> Pers.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529776
<i>Stachys araxina</i> Kopell.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529780

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Stachys fruticulosa</i> M.Bieb.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529802
<i>Stachys fruticulosa</i> M.Bieb.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529803
<i>Stachys inflata</i> Benth.	Roy,T. ve ark. (2013)	KF235673
<i>Stachys inflata</i> Benth.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529809
<i>Stachys inflata</i> Benth.	Alian, M. ve ark. (2015)	KF577396
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502053
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Roy,T. ve ark. (2013)	KF235676
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529817
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Alian, M.. ve ark. (2015)	KF577400
<i>Stachys schtschegleevii</i> Sosn. ex Grossh.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529838
<i>Stachys kurdica</i> Boiss. & Hohen.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529812
<i>Stachys kurdica</i> Boiss. & Hohen.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529813
<i>Stachys kurdica</i> Boiss. & Hohen.	Alian, M.. ve ark. (2015)	KF577390
<i>Stachys megalodonta</i> Hausskn. & Bornm. ex P.H.Davis	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529819
<i>Stachys megalodonta</i> Hausskn. & Bornm. ex P.H.Davis	Alian, M.. ve ark. (2015)	KF577387
<i>Stachys turcomanica</i> Trautv.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529849
<i>Stachys turcomanic</i> Trautv.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529850
<i>Stachys annua</i> L.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529779
<i>Stachys maritima</i> Gouan	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854321
<i>Stachys subaphylla</i> Rech.f.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529842
<i>Stachys setifera</i> C.A.Mey.	Scheen, A.-C. ve ark. (2010)	FJ854328
<i>Stachys setifera</i> C.A.Mey.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529837
<i>Stachys setifera subsp. daenensis</i> (Gand.) Rech.f.	Alian, M.. ve ark. (2015)	KF577399
<i>Stachys bombycina</i> Boiss.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529787
<i>Stachys atherocalyx</i> K.Koch	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529783

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Stachys recta</i> L.	Kajtoch, L. ve ark. (2015)	KJ746355
<i>Stachys recta</i> L.	Coq, S. ve ark. (2017)	KY697462
<i>Stachys chrysantha</i> Boiss. & Heldr.	Lindqvist, C. ve Albert, VA (2002)	AF502047
<i>Stachys chrysantha</i> Boiss. & Heldr.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529793
<i>Stachys menthifolia</i> Vis.	Salmaki, Y. ve ark. (2013)	KF529820



EKII. Kullanılan türlere ait *matK* dizilerininin NCBI numaraları

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Ballota nigra subsp. ruderalis</i> (Sw.) Briq.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911497
<i>Haplostachys haplostachya</i> (A.Gray) H.St.John	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911565
<i>Phlomidosema parviflorum</i> (Benth.) Vved.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911546
<i>Prasium majus</i> L.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911541
<i>Stachys alpigena</i> T.CEFR.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911555
<i>Stachys setifera</i> C.A.Mey.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911540
<i>Stachys setifera subsp. iranica</i>	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993191
<i>Stachys setifera subsp. daenensis</i> (Gand.) Rech.f.	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993192
<i>Stachys recta</i> L.	Wyler, S. ve Litman, J. (2015)	KJ204541
<i>Stachys recta subsp. recta</i>	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911538
<i>Stachys recta</i> L.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911539
<i>Stachys byzantina</i> K.Koch	Zahra, NB ve ark. (2015)	KP172068
<i>Stachys maritima</i> Gouan	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911542
<i>Stachys inflata</i> Benth.	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993189
<i>Stachys kurdica</i> Boiss. & Hohen.	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993182
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911547
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993193
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl	Alian, M. ve ark. (2016)	KP993194
<i>Stachys pilosa</i> Nutt.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911559
<i>Stachys palustris</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN894812
<i>Stachys palustris</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN895214
<i>Stachys palustris</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN895215
<i>Stachys palustris</i> L.	Kuzmina, ML. ve ark. (2013)	JN966688
<i>Stachys sylvatica</i> L.	James, KE. ve ark. (2016)	FJ395437

Takson adı	Kaynaklar	GenBank erişim numarası
<i>Stachys sylvatica</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN895069
<i>Stachys sylvatica</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN895203
<i>Stachys sylvatica</i> L.	de Vere, N. ve ark. (2012)	JN895511
<i>Stachys sylvatica</i> L.	Wylar, S. ve Litman, J. (2015)	KJ204542
<i>Stachys debilis</i> Kunth	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911563
<i>Stachys grandidentata</i> Lindl.	Contreras, R. ve ark. (2020)	MK124962
<i>Stachys arabica</i> Hornem.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911557
<i>Stachys aethiopica</i> L.	Bendiksby, M. ve ark. (2011)	HQ911556

EKIII. *Stachys trnL-F* nükleotit dizileri

Stachys setifera lycia-5811

TTATTGTGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAAT
GGGCGATCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAATAAAGGTTCAAAAACCAAATAAAGGATAG
GTGCAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCTT
TCTACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATTA
ATGATGGCCCGAATCCGTATTTTTTAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTAT
ATTGAAGAAAAAATCGAATATTCATTCATCAAACCATTCCTCCATAGTCCGATAGATCTTTTA
AAGACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACTGGCAACA
ATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTGCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTA
TCCCCAAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCATAACCCCTTAAGGAATCCCTATT
TGAATAATTCACAATCAATAGATGCAGGACTTGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTT
AATTGACAGAGACTACAGTTATCCTATAAAATGGAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGG
ATAGCTCAGCTG

Stachys menthoides-5671

CTTATTGTGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAA
TGGGCGATCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAATAAAGGTTCAAAAACCAAATAAAGGATA
GGTGCAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCT
TTCTACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATT
AATGATGGCCCGAATCCGTATTTTTTAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTA
TATTGAAGAAAAAATCGAATATTCATTCATCAAACCATTCCTCCATAGTCCGATAGATCTTTT
AAAGACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACTGGCAAC
AATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTGCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCT
ATCCCCAAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCATAACCCCTTAAGGAATCCCTAT
TTGAATAATTCACAATCAATAGATGCAGGACTTGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTT
TAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTATAAAATGGAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGG
GATAGCTCAGCTG

Stachys menthoides-5651

CGACGACGCAGACGAGCAGCAGCAGGGTGCTACGGACTGAATGATAATTAAATTGAGCCTTATT
GTGGGAACTACTTAAGTGATTAACCTTTCAAATTCAGAAGAAACCCCGGAATTAATCAAAATG
GGGCGATCCTGATCCAAATCCTGGTTTTTTCAAATAAAGGTTCAAAAACCAAATAAAGGATA
GGTGCAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCT
TTCTACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATT
AATGATGGCCCGAATCCGTATTTTTTAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTA
TATTGAAGAAAAAATCGAATATTCATTCATCAAACCATTCCTCCATAGTCCGATAGATCTTTT
AAAGACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACTGGCAAC
AATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTGCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCT
ATCCCCAAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCATAACCCCTTAAGGAATCCCTAT
TTGAATAATTCACAATCAATAGATGCAGGACTTGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTT
TAATTGACAGAGACTACAGTTATCCTATAAAATGGAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGG
GATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAGGATCTGAAAATCCTCGTATGGGGGGGGCCCCCCCCGGGCC
CGACAACCCCTCCGGCATTATTCCGGGAGGCACCATGGTGTATGGAGTCTGGCGATGCCACTTAG
CGGAGGACGGGGGGGGGGGATATCCACAGGAGTTTTTCTCTCAACAAGGAGTGAGAGATATTA
GTGTG

Stachys setifera setifera-5646

GTGCTACGGACTTAATGATAATTCCAGCATCATTGAGCCTTATTGTGGGAACCTACTAAGTGAT
 AACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAATGGGCGATCCTGATCCAAATCCTGTT
 TTTTCAAATAAAGGTTCAAAAAACCAAATAAAGGATAGGTGCAGAGACTCAACGGAAGCTGTT
 CTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCTTTCTACGGAACTTCAGAAAGGATGA
 AGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATTAATGATGGCCCGAATCCGTATTTTTT
 AATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTATATTGAAGAAAAATCGAATATTCAT
 TCATCAAACCATTCACTCCATAGTCCGATAGATCTTTTAAAGACCTGATTAATCGGACGAGAAT
 AAAGATAGAGTCCCATTCTACATGTCAATACTGGCAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAAAT
 CCGTCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCC
 TAAATAGTTATCCCATACCCCTTAAGGAATCCCTATTTGAATAATTCACAATCAATAGATGC
 AGGACTTGAGAGAAACTTTGTAATCCCGCTCTGTCTCTTTAATTGACAGAGACTACTAGTTAT
 CCTATAAAATGGAGATGGGATGCTACCATTGGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAG
 AGGATCTGAAAATCCTCGTGACCCCTTTTAAAAATAGAGTGGGGGACCTTCGAATTTGGGGGT
 TTTCTTGTTGGTGAGGGGACAATTGAAGGGGCTCGGGGGCGGGATATCACGGTTTTTCCCCAG
 GCGGGGCGACTTCAATTAGTAGGAGC

Stachys palustris-2409

AGTGTGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAATGG
 GCGATCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAACAAAGGTTCAAAAAACCAAATAAAGGATAGGT
 GCAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGGAATCCTTTC
 TACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATTAAT
 GATGGCCCGAATCCGTATTTTTGAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTATAT
 TGAAGAAAAAATCGAATATTCATTCTCAAATCATTCACTCCATAGTCCGATAGATCTTTTAAA
 GACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCATTCTACATGTCAATACCGGCAACAAT
 GAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATC
 CCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTAAGTTATCCCATCCCCCTTTTCGGTAGCGG
 TTCCAAATTCCTTTATCTTTCTGATTCTTTGACTTTCGCATTTGGGCGTAAATGACTTTCTCTT
 ATCACATGTGATATAGAATACACATCCAAATTAAGCAAGGAATCCCTATTTGAATAATTCACAA
 TCAATAGATGCAGGACTTGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACT
 ACAGTCATCCCATAAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGAATGGTCGGGATAGCTCAGCTG

Stachys wilhemseii-5648

CTTATTGTGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAA
 TGGGCGATCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAATAAAGGTTCAAAAAACCAAATAAAGGATA
 GGTGCAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCT
 TTCTACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATT
 AATGATGGCCCGAATCCGTATTTTTTAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTA
 TATTGAAGAAAAAATCGAATATTCATTCAATCAACCATTCCTCCATAGTCCGATAGATCTTTT
 AAAGACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCATTCTACATGTCAATACTGGCAAC
 AATGAAATTTATAGTAAGAGGAAAATCCGTCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCT
 ATCCCCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCATACCCCTTAAGGAATCCCTAT
 TTGAATAATTCACAATCAATAGATGCAGGACTTGGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTT
 TAATTGACAGAGACTACAGTTATCTATAAAAATGGAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGG
 GATAGCTCAGCTG

Stachys sylvatica-5816

TGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAAATGGGCGA
 TCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAACAAAGGTTCAAAAAACCAAATAAAGGATAGGTGCAG
 AGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGGAATCCTTTCTACG
 GAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATTAATGATG
 GCCCGAATCCGTATTTTTGAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTATATTGAA

GAAAAAATCGAATATTCATTCTCAAATCATTCACTCCATAGTCCGATAGATCTTTTAAAGACC
TGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTTCTACATGTCAATACCGGCAACAATGAAA
TTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCA
AAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTAAGTTATCCCATCCCCCTTTTCGGTAGCGGTTC
AAATTCCTTTATCTTTCTGATTCTTTGACTTTTCGCATTTGGGCGTAAATGACTTTCTCTTATCA
CATGTGATATAGAATACACATCCAAATTAAGCAAGGAATCCCTATTTGAATAATTCACAATCAA
TAGATGCAGGACTTGAGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAATTGACAGAGACTACAG
TCATCCCATAAAATGAAGATGGGATGCTACATTGGAATGGTCGGGATAGCTCA

Stachys setifera lycia-5815

TTGTGGGAACCTACTAAGTGATAACTTTCAAATTCAGAGAAACCCCGGAATTAATCAAATGGG
CGATCCTGATCCAAATCCTGTTTTTTCAAATAAAGGTTCAAAAAACCAAATAAAGGATAGGTG
CAGAGACTCAACGGAAGCTGTTCTAACAATGGAGTTGACTGCGTTGGTAGAGAAATCCTTTCT
ACGGAACTTCAGAAAGGATGAAGGATAAACGTATCTATCGAATACTATATCAAATGATTAATG
ATGGCCCGAATCCGTATTTTTTAATATGAAAAATAGAAGAATTGGTGTGAATTGATTCTATATT
GAAGAAAAAATCGAATATTCATTCTCAAACCATTCCTCCATAGTCCGATAGATCTTTTAAAG
ACCTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCCCATTTCTACATGTCAATACTGGCAACAATG
AAATTTATAGTAAGAGGAAAAATCCGTCGACTTTAAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCC
CCAAAAAGCCTATTTGACTCCTAAAATAGTTATCCCATACCCCTTAAGGAATCCCTATTTGA
ATAATTCACAATCAATAGATGCAGGACTTGAGAGAAAACCTTTGTAATCCCGCCTGTCCCTTTAAT
TGACAGAGACTACAGTTATCCTATAAAATGGAGATGGGATGCTACATTGGGAATGGTCGGGATA
GCTCAGCTGG

EKIV. *Stachys matK* Nükleotit Dizileri

Stachys setifera lycia

CTCCTTGCATTTATTACGAGTCTTTCTCAACGAATATTGTAATTGGAATAGTCTTCTTAT
 TTCAAAGAAAGCCAGTTCCCCTTTTTCAAAAAAAAAAACCGATTATTTTTCTTCTTATA
 TAATTCTCATGGAGGGGAATATGAATCCTTTTTTCGCCTTTCTACCCAACCAATCTTTTCA
 TTTACAATCAACATCTTCTGGAGTTTTTTTTGAACGAATTTATTTCTATATAAAAATAAA
 ACGTCTTGGGAACATCTTTGTTAAAATTAGGGATTTTCGGGCAAACCCGCAATTGGCCAG
 GGACCCTTTTCATGCTTTATATTAGGTATCAAAAAAGATCCATTCTGGTTTCAAAGGGG
 CTTTTCTTTTCATGAAGAAATGGAAATTATACCTTGTCACTTTTTGGGAATCGCATTTTT
 CGTTGTGGTTTCATCCAAGAAGCATTATATAAAACCAATTACCCAAGCATTCCCTTGAGA
 TTTTGGGCTATCTTTCAAGCGTGGGAATGAACCCTTCCGTAGTACGCAGTCAAATTATAG
 AAAATTCATTTCTAATCAATAATGCTATTAAGAAGGTTGAGACTCTTGTTCCAATTATTC
 CTCTGATTGCGTCATTGGCTAAAGCAAAATTTTGTAAACGTATTGGGGCATCCCGTTAGTA
 AGCCGATTCGGGCTGATTTATCAGATTCTAATATTATTGACCTATTTGGACGTATATGCA
 GAAATCTTTCTCGTTATCATAGCGGATCTTCCAAAAAAGAGTTTGTATCGAATA

Stachys menthoides-5651

ATGCTTCCTCCTTGCATTTATTACGAGTCTTTCTCAACGAATATTGTAATTGGAATAGTC
 TTCTTATTTCAAAGAAAGCCAGTTCCCCTTTTTCAAAAAAAAAAACCGATTATTTTTCT
 TCTTATATAATTCTCATGTATGGGAATTTGAATCCATTTTCGTCTTTCTACGCAACCAAT
 CTTTTCTTTTCCAATCAACATCTTCTGGAGTTTTTATTGAACGAATTTATTTCTATATAA
 AAATAAAACGTCTTGGGAACATCTTTGTTAAGATTAAGGATTTTCGGGCAAACCCGCGAT
 TGGCCAGGGAACCTTTTCATGCATTATATTAGGTATCAAAAAAGATCCATTCTGGCTTCAA
 AAGGGGCATTTCTTTTCATGAAGAAATGGAAATTATACCTTGTCACTTTTTGGGAATCGC
 ATTTTTCGTTGTGGTTTCATCCAAGAAGCATTATATAAAACCAATTACCCAAGCATTCCC
 TTGAGATTTTGGGCTATCTTTCAAGCGTGGGAATGAACCCTTCCGTAGTACGCAGTCAAA
 TTATAGAAAATTCATTTCTAATCAATAATGCTATTAAGAAGGTTGAGACTCTTGTTCCAA
 TTATTCCTCTGATTGCGTCATTGGCTAAAGCAAAATTTTGTAAACGTATTGGGGCATCCCG
 TTAGTAAGCCGATTTCGGGCTGATTTATCAGATTCTAATATTATTGACCTATTTGGACGTA
 TATGCAGAAATCTTTCTCGTTATCATAGCGGATCTTCCAAAAAAGAGTTTGTATCGA

Stachys setifera setifera-5646

CTTTATTCGATACAAACTCTTTTTTTTGGGAAGATCCGCTATGATAACGAGAAAGATTTCT
 GCATATACGTCCAAATAGGTCAATAATATTAGAATCTGATAAATCAGCCCGAATCGGCTT
 ACTAACGGGATGCCCAATACGTTACAAAATTTTGCTTTAGCCAATGACGCAATCAGAGG
 AATAATTGGAACAAGAGTCTCAAACTTCTTAATAGCATTATTGATTAGAAATGAATTTTC
 TATAATTTGACTGCGTACTACGGAAGGGTTCAATCCCACGCTTGAAAGATAGCCCAAAAT
 CTCAAGGGAATGCTTGGGTAATTGGTTTATATAAATGCTTCTTGGATGAAACCACAACGA
 AAAATGCGATTCCCAAAAAGTGACAAGGTATAATTTCCATTTCTTCATGAAAAGAAATGC
 CCCTTTTGAAGCCAGAATGGATCTTTTTTTGATACCTAATATAATGCATGAAAGGTTCCCT
 GACCAATCGCGGGTTTGCCGAAAATCCTTAATCTTAACAAAGATGTTCAACAAGACGTTT
 TATTTTTATATAGAAATAAATTCGTTCAAGAAAACTCCAGAAGATGTTGATCGTAAATG
 AAAAGATTGGTTGCGTAGAAAGACGAAAATGGATTTCATATTCACATACATGAGAATTATA
 TAAGAAGAAGAATAATCGGTTTTTTTTT---GAAAAAAGGGAAGTGGCTTTCTTTGAAAT
 AAGAAGACTATTCCAATTACAATATTCGTTGAGAAAGACTCGTAATAAATGCAAGGAGGA
 AGCATCTTT

Stachys palustris-2409

AGATGCTTCCTCCTTGCAATTTATTACGAGTCTTTCTCAACGAATATTGTAATTGGAATAG
TCTTCTTAGTTCAAAGAAAGCCAGTTCCTTTTTTCAAAAAAAAAAATAGATTCTTCTT
CTTCTTATATAATTCTCATGTATGTGAATATGAATCCATTTTCGTCTTTCTACGTAACCA
ATCTTTTCATTTACGATCAACATCTTCTGGAGTTTTTCTTGAACGAATTTATTTCTATAT
AAAAC TAGAACGTCTTGCGAACATCTTTGTTAAGATTAAGGATTTTCGGGCAAACCCCG
ATTGGTCAGGGAACCTTTCATGCATTATATTAGGTATCAAAAAAGATCCATTCTGGCTTC
AAAAGGGACATTTCTTTTCATGAAGAAATGGAAATTGTACCTTGTCACTTTTTGGGAATG
GCATTTTTTCGTTGTGGTTTCATCCAAGAAGCATTTATATAAACCAATTACCCAAGCATTC
CCTTGAGATTTTTGGGCTATCTTTCAAGCGTGGGAATCAACCCTTCCGTAGTACGCAGTCA
AATTCTAGAAAATTCATTTCTAATCAATAATGCTATTAAGAAGTTTGAGACTCTTGTTCC
AATTATTTCTCTGATTGCGTCATTGGCTAAAGCAAAATTTTGTAACGTATTGGGGCATCC
CGTTAGTAAGCCGATTCGGGCTGATTTATCAGATTCTAATATTATTGACCTATTTGGACG
TATATGCAGAAATCTTCTCGTTATCATAGCGGATCTTCCAAAAAAGAGTTTGTAT

Stachys wilhemseii-5648

TCGATACAAACTCTTTTTTTTGGAAAGATCCGCTATGATAACGAGAAAGATTTCTGCATAT
ACGTCCAAATAGGTCAATAATATTAGAATCTGATAAATCAGCCCGAATCGGCTTACTAAC
GGGATGCCCCAATACGTTACAAAATTTTGCTTTAGCCAATGACGCAATCAGAGGAATAAT
TGGAACAAGAGTCTCAACCTTCTTAATAGCATTATTGATTAGAAATGAATTTTCTATAAT
TTGACTGCGTACTACGGAAGGGTTTCATTTCCACGCTTGAAAGATAGCCCAAAATCTCAAG
GGAATGCTTGGGTAATTGGTTTATATAAATGCTTCTTGGATGAAACCACAACGAAAAATG
CGATTCCCAAAAAGTGACAAGGTATAATTTCCATTTCTTCATGAAAAGAAATGCCCTTT
TGAAGCCAGAATGGATCTTTTTTTGATACCTAATATAATGCATGAAAGGTTCCCTGACCAA
TCGCGGGTTTGCCCGAAAATCCTTAATCTTAACAAAGATGTTTACAAGACGTTCTATTTT
TATATAGAAATAAATTCGTTCAATAAAAACTCCAGAAGATGTTGATTGTAAATGAAAAGA
TTGGTTGCGTAGAAAGACGAAAATGGATTTCATATTCCCATACATGAGAATTATATAAGAA
GAAAAATAATCGGTTTTTTTTTTTTGAAAAGGGGAAGTGGCTTTCTTTGAAATAAGAAG
ACTATTCCAATTACAATATTGTTGAGAAAGACTCGTAATAAATGCAAGGAGGAAGCAT

Stachys sylvatica-5816

CAAAGATGCTTCCTCCTTGCAATTTATTACGAGTCTTTCTCACGAATATTGTAATTGGAAT
AGTCTTCTTAGTTCAAAGAAAGCCAGTTCCTTTTTTCAAAAAAAAAAATAAATTCTTC
TTCTTCTTATATAATTCTCATGTATGGGAATATGAATCCATTTTCGTCTTTCTACGTAAC
CAATCTTTTCTTTACGATCAACATCTTCTGGAGTTTTTCTTGAACGAATTTATTTCTATA
TAAACTAGAACGTCTTGCGAACATCTTTGGTAAGATTAAGGATTTTCGGGCAAACCCCG
GATTGGTCAGGGAACCTTTCATGCATTATATTAGGTATCAAAAAAGATCCATTCTGGCTT
CAAAAGGGACATTTCTTTTCATGAAAGAAATGGAAATTGTACCTTGTCACTTTTTGGGAA
TGGCATTTTTTCGTTGTGGTTTCATCCAAGAAGCATTTATATAAACCAATTACCCAAGCAT
TCCCTTGAGATTTTTGGGCTATCTTTCAAGTGTGGGAATCAACCCTTCCGTAGTACGCAGT
CAAATTCTAGAAAATTCATTTCTAATCAATAATGCTATTAAGAAGTTTGAGACTCTTGTT
CCAATTATTTCTCTGATTGCGTCATTGGCTAAAGCAAAATTTTGTAACGTATTGGGGCAT
CCCGTTAGTAAGCCGATTCGGGCTGATTTATCAGATTCTAATATTATTGACCTATTTGGA
CGTATATGCAGAAATCTTCTCGTTATCATAGCGGATCTTCCAAAAAAGAGTTTGTAT
CGAATAAAG