



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

**ERCIYES DAĞI'NDA YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI LİKENLEŞMİŞ
MANTARLARIN MORFOLOJİK, ANATOMİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Mehmet Ünsal BARAK**

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2015
KAYSERİ**

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERCİYES DAĞI'NDA YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI LİKENLEŞMİŞ
MANTARLARIN MORFOLOJİK, ANATOMİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Tezi Hazırlayan
Mehmet Ünsal BARAK

Danışman
Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

Ağustos 2015
KAYSERİ

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Mehmet nsal BARAK

“Erciyes Dağı’nda Yayılış Gösteren Bazı Likenleşmiş Mantarların Morfolojik, Anatomik Ve Moleküler Yöntemler İle İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Mehmet Ünsal BARAK

Danışman

Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

Biyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI danışmanlığında **Mehmet Ünsal BARAK** tarafından hazırlanan “**Erciyes Dağı’nda Yayılış Gösteren Bazı Likenleşmiş Mantarların Morfolojik, Anatomik Ve Moleküler Yöntemler İle İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

10.08.2015

JÜRİ:

Başkan : Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

Üye : Doç. Dr. Mehmet CANDAN

Üye : Doç. Dr. Recep KARA

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 11/08/2015 tarih ve 2015/33-52 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Kâzım Keşlioğlu

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezim boyunca benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren, maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI'ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Moleküler çalışmalar esnasında her türlü yardımı sağlayan Sayın Doç. Dr. Fatma ÖZTÜRK KÜP'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her türlü aşamasında desteğini, katkılarını ve bilgisini esirgemeyen, değerli arkadaşım Sayın Arş. Gör. Mithat GÜLLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda, anatomik incelemeler aşamasında yardımcı olan değerli arkadaşım İsmail Bayram GÜLLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yaşantım boyunca her zaman yanımda olan, benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet Ünsal BARAK

Kayseri, Ağustos 2015

**ERCİYES DAĞI'NDA YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI LİKENLEŞMİŞ
MANTARLARIN MORFOLOJİK, ANATOMİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ**

Mehmet Ünsal BARAK

Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2015

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

ÖZET

Bu çalışma; Erciyes Dağı'nda yayılış gösteren bazı likenleşmiş mantarların morfolojik, anatomik ve moleküler yöntemlerle incelenmesini hedeflemiştir. Çalışmada; *Aspicilia cinerea*, *Circinaria mansourii*, *Lecidea atrobrunnea*, *Lecanora rupicola*, *Physcia dubia*, *Rhizocarpon geographicum*, *Rhizoplaca peltata*, *Tephromela atra* ve *Xanthoparmelia pulla* türleri kullanılmıştır. Bu türlerden *Circinaria mansourii* ve *Xanthoparmelia pulla* Erciyes Dağı'ndan ilk defa rapor edilmiştir. Moleküler incelemeler PCR yardımıyla ITS primeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sekans analizleri ile ilgili bölgeler incelenmiştir. ITS sekansları için filogenetik analizler ve dendogramlar, çalışılan örnekler ve gen bankasından alınan örneklerle birlikte yapılmıştır. Filogenetik analizler iki farklı metot (NJ, UPGMA) ile gerçekleştirilmiştir. Neighbor-Joining (NJ) dendogramları incelendiğinde, her bir cinste türlerin iki ana kola ayrıldığı gözlemlenmiştir. İlk kolu, çalışılan türün ve aynı cins içerisindeki gen bankasından alınan diğer türlerin oluşturduğu gözlemlenmiştir. İkinci kolu ise, dış grup olarak alınan türlerin oluşturduğu görülmüştür. UPGMA metodu kullanılarak yapılan analizler sonucunda liken genotiplerinin NJ metoduyla benzer şekilde türler bazında ve dış grup olarak gruplandığı gözlemlenmiştir. Yapılan incelemeler ve elde edilen bulgular sonucunda *Circinaria mansourii* türü Türkiye için yeni kayıt olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Erciyes Dağı, Filogenetik, ITS, PCR, NJ, UPGMA, *Circinaria mansourii*.

**EXEMINATION WITH MORPHOLOGICAL, ANATOMICAL AND
MOLECULAR METHODS OF SOME LICHENIZED FUNGI IN ERCIYES
MOUNT**

Mehmet Ünsal BARAK

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc.Thesis, August 2015

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

ABSTRACT

This study has been made to examine with the morphological, anatomical and molecular methods of some lichenified fungus which located in Erciyes Mountain. In this study, *Aspicilia cinerea*, *Circinaria mansourii*, *Lecidea atrobrunnea*, *Lecanora rupicola*, *Physcia dubia*, *Rhizocarpon geographicum*, *Rhizoplaca peltata*, *Tephromela atra* and *Xanthoparmelia pulla* species were used. *Circinaria mansourii* and *Xanthoparmelia pulla* from this species are reported for the first time from Erciyes Mount. Molecular studies has been performed by using ITS primers with the help of PCR. By sequence analysis, the relevant regions were examined. Phylogenetic analyzes and dendograms for ITS sequences were carried out together with investigated samples and samples from the gene bank. Phylogenetic analyzes were conducted by two different methods (NJ, UPGMA). When we examine NJ dendograms, it is observed that species are sperated into two brances. The first brance is observed consisting of investigated samples and other species from Gen Bank. The second brance is seen consisting of species taken as the outer group. As result of analyzes made by using UPGMA method, we were observed to be grouped into types and external group in analogy with NJ method of the lichen genotypes. As a result of the investigations and findings *Circinari mansourii* species was found to be a new record for Turkey.

Keywords: Erciyes Mountain, Phylogenetic, ITS, PCR, NJ, UPGMA, *Circinaria mansourii*.

İÇİNDEKİLER

ERCİYES DAĞI'NDA YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI LİKENLEŞMİŞ MANTARLARIN MORFOLOJİK, ANATOMİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE İNCELENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISA ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMA ve SİMGELER	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xv
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Likenler	4
1.2. Likenlerin Sınıflandırılması	5
1.2.1. Tallus Yapılarına Göre Likenler	5
1.2.1.1. Homeomerik Likenler	5

1.2.1.2. Heteromerik Likenler	5
1.2.2. Morfolojik Şekillerine Göre Likenler	6
1.2.2.1. Kabuksu Likenler	6
1.2.2.2. Yapraksı Likenler	6
1.2.2.3. Dalsı Likenler	6
1.2.2.4. Pulsu Likenler	7
1.2.3. Substrat Tiplerine Göre Likenler	7
1.2.3.1. Epifitik Likenler	7
1.2.3.2. Saksikol Likenler	7
1.2.3.3. Terrikol Likenler	8
1.2.3.4. Musikol Likenler	9
1.3. Likenlerin Moleküler Olarak Sınıflandırılması	9
1.4. Moleküler Belirteçler (Markırlar)	10
1.4.1. ITS (Internal Transcribed Spacer) ve rDNA	11
1.4.1.1. ITS Bölgesinin Genel Özellikleri	12
1.4.1.2. rDNA ile ITS Bölgesi Arasındaki İlişki	12
1.4.1.3. rDNA Bölgeleri	13
1.4.1.3.1. 18S rDNA (Küçük Alt Birim)	13
1.4.1.3.2. 5.8S rDNA	14
1.4.1.3.3. 28S rDNA (Büyük Alt Birim)	14
1.4.1.4. ITS Kullanılarak Likenlerde Yapılan Çalışmalar	14

1.4.2. DNA Dizi Analizi	17
1.4.2.1. Maxam ve Gilbert'in Kimyasal Kırılma Yöntemi.....	18
1.4.2.2. Sanger DNA Dizi Analizi Yöntemi	19
1.4.2.3. Otomatik DNA Dizi Analizi Yöntemi	21
1.4.3. Filogenetik Analiz.....	23
1.4.4. Filogenetik Ağaç	24
1.4.4.1. Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Yöntemler	25
1.4.4.1.1. Karakter Temelli Yöntemler	25
1.4.4.1.1.1. Maximum Parsimony (MP) Farklılıkları En Aza İndirme Yöntemi.	25
1.4.4.1.1.2. Maximum likelihood (ML) En Yüksek İhtimal Yöntemi	27
1.4.4.1.1.3. Bayes Metodu.....	27
1.4.4.1.2. Mesafe Temelli Yöntemler.....	27
1.4.4.1.2.1 Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu).....	28
1.4.4.1.2.2 Neighbour Joining (Komşu Birleştirme) Metodu.....	28

2. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ	29
2.1.1. Liken Materyali	29
2.2. YÖNTEM.....	30
2.2.1. Toplama Yöntemi.....	30

2.2.2 Tayin Yöntemi	31
2.2.3. DNA İzolasyonu.....	32
2.2.4. PCR Analizleri.....	34
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi	35
2.2.6. DNA Dizi Analizi	35
2.2.7. Filogenetik Analiz.....	36

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Türlerinin Deskripsiyonları	37
3.1.1. <i>Circinaria</i> Cinsi.....	37
3.1.1.2. <i>Circinaria mansourii</i>	37
3.1.2. <i>Aspicilia</i> Cinsi.....	39
3.1.2.1. <i>Aspicilia cinerea</i>	40
3.1.3. <i>Lecidea</i> Cinsi	42
3.1.3.1. <i>Lecidea atrobrunnea</i>	42
3.1.4. <i>Xanthoparmelia</i> Cinsi	44
3.1.4.1. <i>Xanthoparmelia pulla</i>	45
3.1.5. <i>Rhizocarpon</i> Cinsi.....	46
3.1.5.1. <i>Rhizocarpon geographicum</i>	46
3.1.6. <i>Rhizoplaca</i> Cinsi.....	48
3.1.6.1. <i>Rhizoplaca peltata</i>	48

3.1.7. <i>Tephromela</i> Cinsi	50
3.1.7.1. <i>Tephromela atra</i>	50
3.1.8. <i>Physcia</i> Cinsi	52
3.1.8.1. <i>Physcia dubia</i>	53
3.1.9. <i>Lecanora</i> Cinsi	54
3.1.9.1. <i>Lecanora rupicola</i>	55
3.2. ITS İçin PCR Analizleri	57
3.3. ITS DNA Dizi Analizi	57
3.4. Sıralanmış DNA Sekansları.....	58

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ.....	84

KISALTMA ve SİMGELER

Bp	: Baz çifti
cDNA	: Kopya deoksiribonükleik asit
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromid
Dk	: dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ETS	: External Transcribed Spacer (Dış kodlanan bölge)
g	: gram
ITS	: Internal Transcribe Spacer (İnternal Ara Bölgeler)
kb	: Kilo baz
LiCl	: Lityum klorür
LSU	: Büyük Alt Ünite
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
ML	: Maksimum Benzerlik
µl	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
MP	: Maksimum Parsimoni
NJ	: Neighbor Joining
NOR	: Nükleolar Organize Bölge
NTS	: Non Transcribed Spacer (Kodlanmayan Bölge)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PVP	: Polivinil Prolidan

SSU	: Küçük Alt Ünite
TAE	: Tris Asetik Asit
TE	: Tris Edta
UPGMA	: Unweighted pair group method using arithmetic averages (Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu)
TLC	: Thin Layer Chromatography (İnce Tabaka Kromatografisi)
HPTLC	: High Performance Thin Layer Chromatography (Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Liken örneklerinin toplandığı lokaliteler	29
Tablo 2.2. ITS için PCR karışımı.....	34
Tablo 2.3. ITS için PCR döngü şartları.....	34
Tablo 3.1. MB0.001 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	58
Tablo 3.2. MB0.002 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	59
Tablo 3.3. MB0.003 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	59
Tablo 3.4. MB0.004 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	60
Tablo 3.5. MB0.008 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	60
Tablo 3.6. MB0.010 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	60
Tablo 3.7. MB0.011 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	61
Tablo 3.8. MGH0.018 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	61
Tablo 3.9. MGH0.025 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	61
Tablo 3.10. MGH0.139 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı	62
Tablo 3.11. Kullanılan türler, orijinleri ve Gen Bankası numaraları	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Heteromerik tallus yapısı	6
Şekil 1.2. Epifitik Liken	7
Şekil 1.3. Saksikol Liken	8
Şekil 1.4. Terrikol Liken	8
Şekil 1.5. Musikol Liken.....	9
Şekil 1.6. ITS primerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri.....	13
Şekil 1.7. Maxam-Gilbert Kimyasal Kırılma Yöntemi.....	19
Şekil 1.8. Dideoksi nükleotitler varlığında DNA sentezi.....	20
Şekil 1.9. Sentez sonrası DNA bantlarının otoradyografi görüntüsü.....	21
Şekil 1.10. DNA Dizi Analizi sonucu oluşan pikler	22
Şekil 3.1. <i>Circinaria mansourii</i> (MGH0.139)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü ..	38
Şekil 3.2. <i>Circinaria mansourii</i> (MGH0.139)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.	38
Şekil 3.3. <i>Circinaria mansourii</i> (MGH0.139)'nin UPGMA dendrogramı.	39
Şekil 3.4. <i>Aspicilia cinerea</i> (MB0.002 ve MGH0.018)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü	40
Şekil 3.5. <i>Aspicilia cinerea</i> (MB0.002 ve MGH0.018)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.....	41
Şekil 3.6. <i>Aspicilia cinerea</i> (MB0.002 ve MGH0.018)'nin UPGMA dendrogramı.	41
Şekil 3.7. <i>Lecidea atrobrunnea</i> (MB0.008)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü.....	43
Şekil 3.8. <i>Lecidea atrobrunnea</i> (MB0.008)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı..	43
Şekil 3.9. <i>Lecidea atrobrunnea</i> (MB0.008)'nin UPGMA dendrogramı.....	44
Şekil 3.10. <i>Xanthoparmelia pulla</i> (MB0.001)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü ..	45
Şekil 3.11. <i>Xanthoparmelia pulla</i> (MB0.001)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.	45

Şekil 3.12. <i>Xanthoparmelia pulla</i> (MB0.001)'nin UPGMA dendrogramı.....	46
Şekil 3.13. <i>Rhizocarpon geographicum</i> (MB0.011)'un morfolojik ve anatomik görüntüsü	47
Şekil 3.14. <i>Rhizocarpon geographicum</i> (MB0.011)'un Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.....	47
Şekil 3.15. <i>Rhizocarpon geographicum</i> (MB0.11)'un UPGMA dendrogramı.....	48
Şekil 3.16. <i>Rhizoplaca peltata</i> (MB0.003)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü	49
Şekil 3.17. <i>Rhizoplaca pletata</i> (MB0.003)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı	49
Şekil 3.18. <i>Rhizoplaca pletata</i> (MB0.003)'nin UPGMA dendrogramı	50
Şekil 3.19. <i>Tephromela atra</i> (MB0.004)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü	51
Şekil 3.20. <i>Tephromela atra</i> (MB0.004)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı	51
Şekil 3.21. <i>Tephromela atra</i> (MB0.004)'nin UPGMA dendrogramı	52
Şekil 3.22. <i>Physcia dubia</i> (MGH0.025)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü.....	53
Şekil 3.23. <i>Physcia dubia</i> (MGH0.025)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.....	53
Şekil 3.24. <i>Physcia dubia</i> (MGH0.025)'nin UPGMA dendrogramı	54
Şekil 3.25. <i>Lecanora rupicola</i> (MB0.010)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü.....	55
Şekil 3.26. <i>Lecanora rupicola</i> (MB0.010)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.....	56
Şekil 3.27. <i>Lecanora rupicola</i> (MB0.010)'nin UPGMA dendrogramı	56
Şekil 3.28. Türlerin ITS bölgesinin 55-52 °C değişken bağlanma sıcaklığında PCR sonucunda elde edilen DNA bantlarının elektroforez görüntüsü	57

GİRİŞ

Likenler; bir mantar ortağı (mikobiyont) ve bir ya da daha fazla fotosentetik alg ortağının (fotobiyont) bir araya gelmesiyle oluşan fizyolojik birliklerdir. Mantar bileşeni (mikobiyont) Ascomycetes veya Basidiomycetes üyesidir. Ancak liken oluşturan mantarların çok büyük bir kısmını Ascomycetes üyeleri oluşturur ve Ascomycetes üyelerinin neredeyse yarısı likenleşmiş mantardır. Aynı zamanda az sayıda liken oluşturan Basidiomycetes ve Deuteromycetes türleri de vardır. Deuteromycetes, eşeyli üreme organı içermeyen türlerin yerleştirildiği yapay bir sınıftır. Mikobiyont ile simbiyotik işbirliği kuran fotobiyontlar ise yeşil algler (*Chlorophyta*) veya siyanobakterilerdir (*Cyanobacteria*)'dir [1].

Likenin yapısına katılan mantar ve algler, görünüş ve yaşayış şekli bakımından liken oluşumuna katılmadan önceki formları ile hiçbir benzerlik göstermezler ve uzun ömürlü bir tallus oluştururlar [2]. Bu birliktelikteki mantar hifleri, liken tallusuna su, karbondioksit ve mineral maddeleri temin ederken, alg hücreleri ise fotosentez sonucu sentezlediği organik maddeleri ve oksijeni verir. Çeşitli kaynaklara göre dünyadaki liken türü sayısı yaklaşık olarak 25.000 civarındadır [3].

Likenler tropiklerden kutuplara kadar hemen hemen bütün karasal habitatlarda gelişebilmektedir. Likenler simbiyoz yaşamın bir sonucu olarak geniş yayılışa sahip olmalarına rağmen, ayrı birer birey olarak mantar ve algler bütün karasal habitatlarda gelişim gösteremezler. Liken oluşumunda yüksek ışık yoğunluğu fotobiyontu olumsuz etkiler. Ancak mikobiyont ortağı olan mantar, fotobiyontun maruz kalacağı yüksek ışık yoğunluğunu azaltarak fotobiyontun yaşama şansını artırır. Böylece likenler yüksek güneş ışığına maruz kalan habitatlarda bile yaşayabilirler [4]. Likenler iki ortağın da birliktelikten yarar sağladığı mutualistik yaşam şekli olan simbiyoz yaşama örnek olarak gösterilirler. Ancak son zamanlarda likenler kontrollü parazitliğe örnek olarak da gösterilir. Çünkü mikobiyont ortağı bu birliktelikten en çok yarar sağlayan ortak

durumundadır ve fotobiyont ortağı serbest yaşayan formuna göre liken oluşumunda daha yavaş büyüebilmektedir [3].

M.Ö. IV.'ncü yüzyılda ilk kez Yunanlı Theophrastus "Liken" terimini kullanılmıştır. Fakat Theophrastus'un Liken olarak isimlendirdiği bitkiler "Ciğer otları" idi. Daha sonraları ise Liken deyimi birçok botanikçi tarafından, yosunlar ile karıştırılmıştır. Likenlerin, Alg ve Mantarların bir araya gelmesiyle oluştuğunu ilk kez Alman botanikçisi "Simon Schwendener" önermiştir [5]. İsveçli bilim insanı Linnaeus ise likenleri "Lichen" isminde tek cins altında toplamış ve 80 tür tanımlamıştır [6]. Likenolojinin babası olarak atfedilen diğer bir İsveçli botanikçi Erik Acharius ise Linnaeus'un "Lichen" olarak isimlendirdiği cinsi 41 cins ayırmıştır. Acharius ayrıca bu yaptığı sınıflandırmada tallusun yüzeyinde bulunan soredleri ve askosporları ayırt edici karakterler olarak kullanmıştır [7].

Likenler üzerine yapılan sistematik çalışmalar, diğer çoğu organizmalarda olduğu gibi daha çok morfolojik karakterlere dayalı olarak yapılmaktadır. Likenlerin talluslarında bulunan liken asitlerinin belirli kimyasal maddeler ile reaksiyonları sonucu verdikleri renk tepkimeleri de tanımlamaya yardımcı olan bir diğer faktördür. Ancak tüm bu tanımlama çalışmaları da likenlerin sistematik kategorilerini tam olarak belirlemeye yetmemektedir [8].

Erciyes Dağı likenleri üzerine şüana dek yapılan çalışmalar şunlardır; Steiner (1905) Erciyes dağında 29 cins ait 93 tür ve 46 tür altı takson [9], Güvenç (2001) Erciyes Dağı'ndan 21 cins ait 40 liken türü [10], Halıcı vd. (2005) Erciyes Dağı'ndan 63 cins ait 215 liken türü belirlemiştir [11]. Erciyes Dağı'nda şüana dek yapılan çalışmalarda toplam 215 tür ve tür altı takson belirlenmiştir.

Son yıllarda Liken oluşturan simbiyonların genetik varyasyonlarının araştırılması oldukça gelişmiştir [12]. Liken oluşturan mantarların genetik çeşitliliği, popülasyon dinamiği ve evrimsel süreçleri üzerine az sayıda çalışma bulunmaktadır. Fakat bu çalışmaların sayısı gün geçtikçe çoğalmaktadır [13].

Bu alışmada Erciyes Dağı'nda yayılış gösteren bazı likenleşmiş mantarların morfolojik, anatomik ve moleküler olarak incelenmesi, ITS gen bölgesinin PCR yardımı ile çoğaltılarak ilgili gen bölgesinin DNA dizi analizi yöntemi ile incelenmesi ve incelenen türler arasındaki benzerlik ve farklılıkların ortaya çıkartılması amaçlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Likenler

Likenler mantarlar ile alglerin birleşerek morfolojik ve fizyolojik bir bütün halinde meydana getirdikleri simbiyotik birlikteliklerdir [14].

Likenler, havanın toksik etkisine karşı güçlü değildir. Bu nedenle genellikle hava kirliliğinin olmadığı yerlerde yaşayabilirler ve hava kirliliğine karşı duyarlılıkları nedeniyle biyolojik indikatörler olarak görev yaparlar. Likenler SO₂ (Kükürt dioksit) gibi gaz kirleticilere karşı duyarlılıkları fark edildiğinden bu yana, şehir kirliliği ve emisyon kaynakları çevresinde indikatör olarak kullanılmaktadırlar.

Likenler, ekolojik açıdan oldukça önemlidir ve ekolojik süksesyonda öncüdürler. Likenler, tutundukları kayaları salgıladıkları liken asitleriyle yavaş yavaş parçalayarak kaya üzerinde ince bir toprak tabakası oluştururlar. Böylece karayosunlarının gelişebilmesi mümkün olur. Daha sonra liken parçaları ve orada gelişen karayosunlarının da katılmasıyla organik maddenin sürekli artması sonucu oluşan humus üzerinde önce otsu bitkilerin sonra çalı formlarının daha sonra da yüksek yapılı bitkilerin gelişmesi için elverişli bir ortam sağlanmış olur. Böylece likenler primer süksesyonda öncüdürler [15].

Likenlerde hem eşeyli hem de eşeysiz üreme yolları mevcuttur. Likenler çoğunlukla eşeysiz olarak ürerler. Likenlerin eşeysiz üremesini sağlayan soredlerdir. Soredler, tallusun alg tabakasından meydana gelen bir veya birkaç alg hücrelerini mantar hücrelerinin sarmasıyla oluşan yapılardır. Tallusun kabuk tabakasında meydana gelen yarıklardan dışarı açılarak rüzgar ve diğer çeşitli etkenler ile taşınırlar ve gelişerek yeni likenleri meydana getirirler. Likenlerde eşeyli üreme ise yalnızca mantar tarafından gerçekleştirilir. Alg hiçbir liken türünde eşeyli olarak üreyemez. Likenlerde eşeyli üreme yapıları apotesyum ve peritesyum olarak adlandırılır. Bu fruktifikasyonların

himenyum tabakasında askuslar içerisinde askosporlar bulunur. Bu askosporlar erginleşince etrafa yayılırlar ve uygun ortam şartlarında çimlenirler. Fotosentetik alg ortağına rastlayarak yeni likenleri meydana getirirler [3].

Likenlerin sınıflandırılmasında üreme organlarının tipleri, şekilleri, askuslarında taşıdıkları spor sayısı ve sporlara ait özellikler önemli ayırt edici karakterlerdir [16].

Likenlerde apotesyum şeklindeki üreme organları daha yaygın görülür ve üç grupta incelenir. Bunlar; Lecanorin (tallus kenar içeren), Lecidein (özel bir dokudan oluşan apotesyum kenarı içeren), Biatorin (kenar içermeyen) olarak gruplandırılırlar [17].

1.2. Likenlerin Sınıflandırılması

Likenler sistematikçiler tarafından değişik şekillerde sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma yapılırken; tallus yapıları, morfolojik yapıları ve üzerinde geliştikleri substratları, habitatları vb. özellikler dikkate alınmıştır.

1.2.1. Tallus Yapılarına Göre Likenler

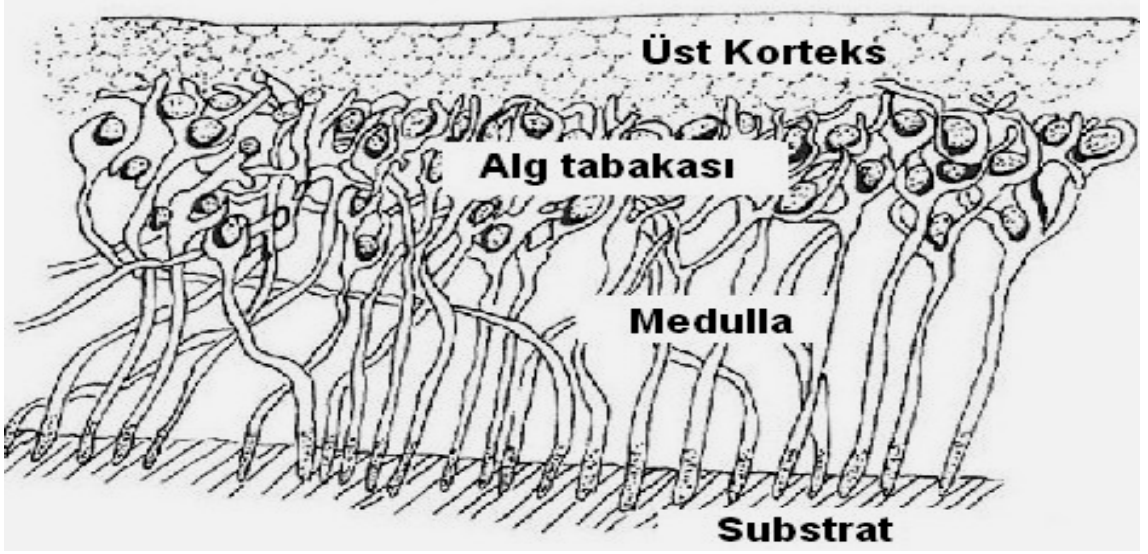
Alg ve mantarların birbirleri ile etkileşimi değişik şekillerde olabilir. Eğer alg ve mantar hücreleri tallus yapısında homojen bir dağılım gösterirse bu tip likenler ‘Homeomerik’ liken, alg ve mantar hücreleri tallus içinde tabakalaşma gösterirse bu likenler de ‘Heteromerik’ liken olarak isimlendirilirler.

1.2.1.1. Homeomerik Likenler

Homeomerik likenlerde, alg ve mantar ayrı bir katman oluşturmadan homojen bir şekilde karışmışlardır. Tallus jelatini andıran müsilajımsı bir yapıdadır [14].

1.2.1.2. Heteromerik Likenler

Heteromerik likenlerde, üst kabuk katmanı (korteks) ile orta kısım arasında algler bulunur, diğer kısımlar sıkı ya da gevşek dizilmiş mantar hiflerinden oluşur (Şekil 1.1). Çoğu liken bu grupta yer alır. Mantar hiflerinden oluşan tabakaya ‘Medulla’ tabakası, alg hücrelerinden oluşan tabakaya ise ‘Gonidi’ tabakası adı verilir. Örnek olarak *Hypogymnia* cinsini verebiliriz [18].



Şekil 1.1. Heteromerik tallus yapısı [19].

1.2.2. Morfolojik Şekillerine Göre Likenler

1.2.2.1. Kabuksu Likenler

Tallusları kabuk şeklinde olan ve tüm alt yüzeyi ile substrata sıkıca bağlanmış likenlerdir. Tamamen substrata yapışık olarak bulunurlar ve tallusları substrat olmaksızın toplanamaz. Ya substrattan kazıyarak ya da bir miktar substrat ile birlikte toplanabilir. Salgıladıkları liken asitleri ile kayaları eriterek kayaların içinde gömük olarak bulunabilirler. Örnek olarak; *Aspicilia*, *Lecanora*, *Caloplaca* ve *Rhizocarpon* cinsleri verilebilir.

1.2.2.2. Yapraksı Likenler

Dorso-ventral olarak yassılaştırmış lop ve yapraklardan oluşan tallus tipidir. Rizin veya umbilikus ile substrata tutunan likenlerdir. Substrata hafifçe bağlıdırlar. *Parmelia*, *Umbilicaria*, *Peltigera* cinsleri yapraksı likenlere örnektir.

1.2.2.3. Dalsı Likenler

Tallusları az veya çok dallanmış iplik, şerit şeklinde olan likenlerdir. Küçük bir tallus parçası ile substrata tek bir noktadan tutunurlar. Kolayca substratlarından ayrılırlar. Dalsı likenlere örnek olarak *Usnea* ve *Evernia* cinsleri verilebilir.

1.2.2.4. Pulu Likenler

Bu likenler talluslarında ‘pullar’ formunda substrattan ayrılmaktadırlar. Bunlar kabuksu likenler ile üst korteks bulundurmasıyla benzerlik göstermelerine karşın alt kısımları ise farklılık göstermektedir. Örnek olarak *Squamarina cartilaginea* türü verilebilir.

1.2.3. Substrat Tiplerine Göre Likenler

Likenler, üzerinde geliştikleri substratlara göre, ara formları olmakla beraber, temel olarak 4 grupta incelenebilirler.

1.2.3.1. Epifitik Likenler

Doğadaki diğer bitki formlarını (ağaç, çalı, karayosunu, vb.) substrat olarak seçen likenlerdir. Bu likenler substrata kısmen veya tamamen gömük olarak ya da yüzeyde bulunabilirler (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Epifitik Liken [20].

1.2.3.2. Saksikol Likenler

Çeşitli taş veya kaya üzerinde gelişim gösteren likenlerdir. Bunlardan kaya yüzeyinde gelişim gösteren likenlere epilitik likenler, kayaya kısmen gömük olarak gelişim gösteren likenlere ise endolitik likenler adı verilir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Saksikol Liken [21].

1.2.3.3. Terrikol Likenler

Silisli, kalkerli veya humuslu toprak üzerinde gelişim gösteren likenlerdir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Terrikol Liken [22].

1.2.3.4. Musikol Likenler

Karayosunları üzerinde gelişen likenlerdir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Musikol Liken [23].

1.3. Likenlerin Moleküler Olarak Sınıflandırılması

Geleneksel taksonomi, çoğunlukla organizmaların morfolojik ve anatomik özelliklerine dayanır. Fakat günümüzde moleküler biyoloji teknikleri oldukça hızlı bir şekilde gelişmiştir. Moleküler biyolojide ki bu hızlı gelişme taksonomi ve bütün biyolojik disiplinleri etkilemiştir. Geleneksel teşhis anahtarları, organizmaların morfolojik, anatomik ve bazen de kimyasal özelliklerine göre çalışır. Ancak, incelenen organizmaların özelliklerinin bazen birbirine oldukça yakın olmasından dolayı sınıflandırılmaları oldukça zorlaşır. Bu yüzden türler arasındaki morfolojik ve anatomik farklılıklar organizmaların kesin olarak teşhis edilebilmesi için yeterli olmayabilir. Diğer bir durumda ise yaşam alanları (habitatlari) farklı olan organizmaların anatomik ve morfolojik özelliklerinde birçok değişiklik meydana gelir. Bu nedenle aynı türlere ait olan organizmalar morfolojik ve anatomik özellikler bakımından farklılıklar gösterir. Bu sebepten dolayı genotip, fenotipe oranla daha stabildir. Taksonomide, morfolojik ve anatomik özellikleri kesinleştirmek için genetik özelliklerin kullanılması oldukça yararlıdır [8].

Likenler üzerine yapılan sistematik çalışmalar, diğer çoğu organizmalarda olduğu gibi daha çok morfolojik karakterlere dayalı olarak yapılmaktadır. Likenlerin talluslarında bulunan liken asitlerinin belirli kimyasal maddeler ile reaksiyonları sonucu verdikleri renk tepkimeleri de tanımlamaya yardımcı olan bir diğer faktördür. Ancak tüm bu tanımlama çalışmaları da likenlerin sistematik kategorilerini tam olarak belirlemeye yetmemektedir. Ayrıca liken çalışmalarında, TLC, HPTLC ve HPLC gibi yöntemler de kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile likenlerin içerdikleri metabolitler oldukça başarılı bir şekilde belirlenebilmektedir. Bu bileşikler çeşitli alanlarda (tıp, eczacılık ve endüstri) insanlar tarafından kullanılmaktadır. Bu nedenle oldukça önemli yöntemlerdir. Fakat bu yöntemler de tek başına likenlerin teşhisini ve sistematik kategorilerini tam olarak belirlemeye yetmemektedir [8].

Liken sistematığıne kesinlik kazandıran moleküler biyolojik tekniklere dayalı olan PCR tekniğidir. PCR tekniğinin gelişiminden önce moleküler biyolojik yöntemler çok azdı. PCR uygulamalarının başlaması ile nükleik asitler yeni karakterlerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Bugün popülasyon genetiği ve mantar filogenisinin moleküler biyolojik incelenmesi çalışmalarında PCR yöntemi çok büyük öneme sahiptir [24].

Bu çalışmalar neticesinde elde edilecek bilgiler doğrultusunda, moleküler filogeniye dayalı olarak çalışılacak cinslerin taksonomik problemlerinin çözümlenmesi, liken oluşturan mantarların sınıflandırılmasındaki yerlerini moleküler boyutta ortaya koyması açısından ve evrimsel ilişkileri bakımından oldukça büyük önem taşımaktadır.

1.4. Moleküler Belirteçler (Markırlar)

Moleküler belirteç, genomda bulunan herhangi bir gen bölgesi veya gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler belirteçler, popülasyondaki çeşitlilik ya da o popülasyon içerisindeki genotipler arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde %100'e yakın güvenilirlikle göz önüne alınır.

Moleküler belirteçler morfolojik ve biyokimyasal belirteçlere göre birçok avantajlara sahiptirler [25]. Bu avantajlar şunlardır:

1. Genoma bağlı olduklarından güvenilirlerdir.
2. Tekrarlanabilir ve laboratuvarlar arasında standardize edilebilirler.
3. Genomda birden fazla bölgeyi belirleme olanağına sahiptirler.

4. Çevresel koşullardan etkilenmezler.
5. Dominat ve kodominat özellik gösterirler.
6. Bütün dokularda tanımlanabilmektedirler.
7. Belirteçler öldürücü etkiye sahip değildirler.

1.4.1. ITS (Internal Transcribed Spacer) ve rDNA

rDNA ökaryotlarda çekirdekte yer alan, kopyaları peş peşe dizili, çoklu bir gen ailesidir. Tekrarlanan her bir bölge 18S, 5.8S ve 28S rRNA genlerini içermektedir. Bu genler ITS1 ve ITS2 (Internal Transcribed Spacer), ETS (External Transcribed Spacer) ve IGS (Intergenic Spacer) isimli bölgelerle birbirinden ayrılmıştır. Yüksek frekanslı mutasyonlar gösteren ITS bölgesi cinsler içerisindeki türler arasında ya da popülasyonlar arasında farklılıklar göstermektedir. Kodlanmayan iki değişken bölgeden meydana gelen ITS bölgesi, oldukça korunmuş küçük alt birim (SSU) ile 5.8S alt birimi arasında (ITS1 bölgesi) ve büyük alt birim (LSU) rRNA genleri ile 5.8S alt birimi arasındaki bölgede (ITS2 bölgesi) yer almaktadır.

ITS1F primeri mantarlara özgü bir primerdir ve rDNA'nın SSU geninin 3' ucunda bulunur. ITS4 primeri ise evrensel bir primer olarak tanımlanmıştır ve LSU geninin 5' ucunun tamamlayıcısıdır [26].

Nükleer rDNA'nın diğer bölgelerinden ITS; cins, tür ve popülasyon gibi daha düşük kategorik seviyelerdeki problemleri çözmek için kullanılmaktadır [27, 28, 29]. IGS bölgesinin büyüklüğü 4-5 kb uzunluğunda iken ITS bölgesi yaklaşık olarak 1 kb uzunluğundadır. Ancak ITS bazı gruplarda farklı uzunlukta olabilmektedir. Örneğin; insanlarda yaklaşık 2 kb, strepsipteran böceklerde 1.8 kb uzunluğundadır [30]. IGS bölgesinin büyük olmasından dolayı filogenetik araştırmalarda, ITS bölgesi tercih edilmektedir.

18S rDNA nispeten yavaş evrim geçirir ve uzak akraba olan organizmaların karşılaştırılmasında kullanılmaktadır. Kodlama yapmayan ITS bölgeleri daha hızlı evrim geçirir ve bir cinse ait türlerin veya bir türdeki suşların karşılaştırılması için kullanılır. 28S rDNA'nın bazı bölgeleri türler arasında farklılık göstermektedir [31].

ITS gibi DNA dizileri diğer tüm türler içerisinde tek bir türün saptanması için uygundur. Örnek olarak; ITS dizilerindeki farklılık mantarın izolasyonuna gerek kalmadan konak bitkideki çoğu fitopatolojik mantar türünün saptanmasını sağlamıştır. rDNA'nın diğer dizileri örneğin 18S rDNA, 28S rDNA ve mitokondriyel rDNA dizileri de spesifik primerler geliştirmek için kullanılmaktadır [32].

1.4.1.1. ITS Bölgesinin Genel Özellikleri

- Filogenetiğin yeniden inşasında yeterli veri sunacak kadar uygun bir büyüklüğe sahiptir (600–700 bp).
- Genomik DNA üzerinde yüksek kopya sayısına sahiptir.
- Cins ve tür içi seviyelerde ileri derecede korunmuş olan rDNA gen bölgelerine komşu olarak bulunmaktadır.
- Cins ve tür seviyesindeki filogenetik çalışmalarda DNA içerikleri, açıklayıcı bilgiler sunmaktadır.
- rDNA gen bölgelerine göre daha hızlı nükleotit baz değişimi gösterir.
- ITS1 ve ITS2 bölgelerinin filogenetik açıdan sundukları veriler farklı düzeydedir. Bu bölgelere dayalı analizlerde ITS1 verileri, daha fazla filogenetik çözümler sunmaktadır ve nükleotid içeriği ITS2'ye göre % 29 daha değişkendir.
- rDNA'nın olgun 18S, 5.8S ve 28S alt birimlerinin oluşumu sürecinde görev almaktadır.
- Ökaryotik organizmalarda 5.8S gen bölgesi, çoğunlukla ITS bölgeleri ile birlikte değerlendirilir [33].

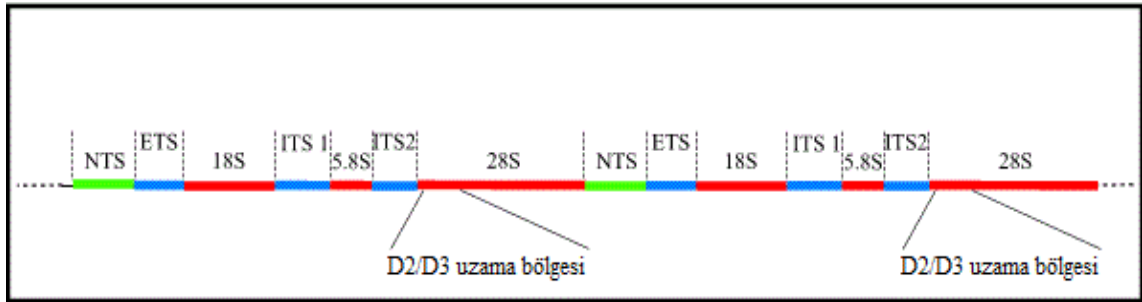
1.4.1.2. rDNA ile ITS Bölgesi Arasındaki İlişki

Moleküler biyolojideki son gelişmeler, türe özgü gen bölgelerinin belirlenmesiyle bitki türlerinin tanımlanmasına imkân vermektedir. Buna yönelik olarak, rDNA'nın ITS bölgeleri, likenlerdeki moleküler sistematik çalışmalarda sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri haline gelmiştir [33].

ITS bölgesi türlerin teşhis edilmesinde morfolojik verilere oranla büyük kolaylık sağlamaktadır ve filogenetik çalışmalarda çok tercih edilmektedir [34].

ITS (internal transcribed spacers) bölümleri cins ve tür düzeyinde yapılacak filogenetik bir çalışma için en güvenilir metotlardandır. Bu nedenle ribozomal DNA ITS liken sistematığı ve tanımlamada sahip oldukları genomik bölümlerin işlevliği ile paralel olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanımdaki avantajı ribozomal DNA'nın yüksek düzeyde konservatif genlere sahip olması ve ITS bölümleri arasında konumlanmasıdır [35].

Genomik DNA üzerindeki rDNA bölgeleri, çoklu gen yapılarından oluşur ve ardışık sıralanmış tekrarlı diziler şeklindedir. rDNA tekrarları; genomik DNA'nın NOR (Nükleolar Organizer Region) bölgelerinde yerleşmiş durumdadır ve 18S küçük alt birim, 5.8S ve 28S büyük alt birim rDNA'ları kodlayan genlerden oluşmaktadır. ITS bölgeleri, genomik DNA üzerindeki bu rDNA tekrarları içinde yerleşmiştir. Bu bölgeler, rDNA'nın alt birimleri ile transkribe edilmektedir ve korunmuş bölgeleri (18S, 5.8S ve 28S) birbirinden ayıran iki kısımdan (ITS1 ve ITS2) oluşmaktadır [33]. Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine bağlanabilen evrensel primerler kullanılarak PCR çalışmalarıyla kolayca elde edilebilir. Bu amaçla kullanılan evrensel ITS primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 1.6' da gösterilmiştir.



Şekil 1.6. ITS primerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri [36].

1.4.1.3. rDNA Bölgeleri

1.4.1.3.1. 18S rDNA (Küçük Alt Birim)

Küçük alt birim rDNA'sı yüksek derecede korunmuş bir bölgedir. Alem, şube ve sınıf seviyesindeki filogenetik çalışmaların yeniden inşası için sıklıkla kullanılmaktadır [37].

Küçük alt birim rDNA baz sıraları, fungal soyların sistematığında farklı taksonomik seviyelerde filogeninin yeniden inşasında kullanılmaktadır [38].

1.4.1.3.2. 5.8S rDNA

5.8S rDNA tekrar birimleri içinde en küçük uzunluğa sahip olanıdır. Nükleotit içeriği ileri derecede korunmuş olan 5.8S rDNA büyük alt birimin bir parçasıdır. Bu bölgenin baz uzunluğu (163-164 bp) yeterince uzun olmadığından filogenetik çalışmalarda tek başına kullanılmamaktadır. Bu nedenle filogenetik analizlerde, ITS bölgeleriyle birlikte değerlendirilmektedir [38].

1.4.1.3.3. 28S rDNA (Büyük Alt Birim)

Büyük alt birim rDNA, küçük alt birim rDNA'ya göre daha uzundur ve baz içeriği açısından daha fazla varyasyon göstermektedir.

rDNA genlerinin gösterdiği varyasyonlar akraba türlerin teşhisinde yeterli bilgi sunmamaktadır. Bu nedenle rDNA genlerinin gösterdiği varyasyonlardan, familya ve daha yukarı seviyelerde faydalanılmaktadır [37].

rDNA tekrarlarının ITS ve IGS bölgeleri, yüksek oranda varyasyon gösterdiğinden cinsler arasında, tür seviyesinde ve popülasyon çalışmalarında karşılaşılan taksonomik problemleri çözmeye kullanılmaktadır. Ancak IGS (4–5kb) bölgelerinin ITS bölgelerine göre daha uzun parçalara sahip olması ve dizi analizindeki zorluk nedeniyle, filogenetik çalışmalarda çoğunlukla ITS bölgeleri kullanılmaktadır [38].

1.4.1.4. ITS Kullanılarak Likenlerde Yapılan Çalışmalar

Bruns *et al.* (1990) ve Taylor & Swann (1994) yaptıkları bir çalışmada her zaman taze materyale ulaşamayacağından herbaryum koleksiyonlarından moleküler çalışmalar için önemli ölçüde materyal temin edebileceğini göstermişlerdir [39, 40].

Casares *et al.* (1996) çalışmalarında *Lecidea* cinsinin İspanya'nın jips topraklarının liken florasında bulunan iki türünü: *L. gypsicola* Llimona ve *L. circinarioides* Casares & Hafellner tanımlamışlardır [41].

Goffinet & Bayer (1997) askuslu mantarlara özgü bir primer kullanarak, *Peltigera malacea*, *Peltigera aphthosa*, *Peltigera britannica* ve *Peltigera leucophlebia* türlerinin, *Nephroma expallidum* ve *Nephroma arcticum* türlerinin rDNA ITS bölgelerini çoğaltmışlar ve 5.8S dizilerinin karşılaştırılmasıyla, toplam liken DNA'sından mantar

DNA'sının çoğaltılması için askomiseteslere özgü primerlerinin yeterli olduğunu belirtmişlerdir [42].

Arup & Grube (1998) çalışmalarında, *Lecanora* subgenus *Placodium*'un nuclear ITS ve 5.8S bölgelerinin DNA sekans bilgilerini kullanarak moleküler sistematiğini araştırmışlardır [43].

ITS, *Rocella* gibi daha az farklılık gösteren cinslerde filogenik ilişkinin tespiti için önemli veri sağlamıştır [44]. *Parmaliaceae* gibi çok geniş bir familyadaki filogenetik ilişkiyi çözmede ITS bilgisi, beraberinde nucSSU bilgisi kullanılarak dahi başarılı olamamıştır [45].

Ivanova *et al.* (1999) yaptıkları çalışmada *Umbilicariaceae* familyasının filogenetik analizinde, ITS 1F ve ITS 4 primerleri ile rDNA'ya ait dizi analizi yapmış ve türler arasındaki farklılıkları ortaya çıkarmışlardır [46].

Dyer & Murtagh (2001) Doğu Antartika'da, Vestfold tepelerinde bulunan *Buellia frigida* ve *Xantharia elegans* ile yaptıkları çalışmada, genetik varyasyonlarının oldukça düşük olduğunu kaydetmelerine karşın, değişik bölgelerden toplanan *X. elegans*'ın tür içinde dahi oldukça yüksek genetik varyasyon gösterdiğini ITS bölgelerinin incelenmesi ile ortaya çıkarmışlardır [47].

Krzeminska *et al.* (2001) *Cetraria* cinsinde moleküler tanımlama anahtarları oluşturmak üzere RFLP (restriksiyon fragment length polymorphism) analizi gerçekleştirmişlerdir. Bu analizde yine ITS bölgeleri PCR'la çoğaltılmış ve restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. Sonuçta elde edilen polimorfizimi ifade eden değişik bant desenleri ile moleküler tanımlama anahtarları oluşturulmuştur [48].

Grube & Arup (2001) *Physciaceae* ailesinin çeşitli grupları ve *Rinodina* ve *Buellia* cinslerinden seçilmiş bazı türleri ile çeşitli referans dizilerine dayanarak, nükleer ITS dizi bilgisine dayalı bir filogenetik araştırma yapmışlar, *Physcia* ve *Buellia* gruplarının içerdikleri cinsleri belirlemişler [49].

Murtagh *et al.* (2002) değişik coğrafik lokalitelerden ve iklim rejimlerinden toplanan *X. elegans* örnekleri ile yaptıkları çalışmada, ITS bölgelerinin incelenmesi yanı sıra RAPD

tekniki de uygulamışlardır. Her iki teknik de oldukça yüksek genetik varyasyonun varlığını ortaya koymuşlardır [50].

Molina *et al.* (2002) *Diploicia* ve *Diplotomma* liken cinslerine ait rDNA ITS bölgelerinin dizi analizini yaparak, bu cinsleri moleküler filogenetik yönden incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda türler arasındaki genetik benzerlik ve uzaklığı ortaya çıkarmışlardır. Özellikle farklı habitat ve populasyonlarda varyasyon gösteren örneklerin moleküler filogenisi belirlenerek bu türler arasındaki genetik uzaklığın tespiti yapılmıştır [51].

Martin *et al.* (2003) *Diploschistes* cinsine ait türlerin moleküler filogenisini ITS bölgesinin dizi analizini yaparak incelemişlerdir [52].

Lindblom & Ekman (2004) *Xanthoria parietina* ve *Xanthoria aureola* arasındaki moleküler farklılığı açıklamak için nükleer ribozomal DNA'nın IGS ve ITS bölgelerini kullanmışlardır. Çalışmanın sonunda bu iki tür arasındaki moleküler farklılıkları açıklamışlardır [53].

Buschbom & Mueller (2004) yaptıkları çalışmada *Porpidia* ve bu cinsle evrimsel olarak yakın ilişkili türleri çalışmışlar ve çalışmanın sonunda bu cinse ait evrimsel yorumda bulunmuşlardır [54].

Rios *et al.* (2005) çalışmalarında granit içinde endolitik büyüyen iki *Lecidea* türünü: *Lecidea cancriformis* and *Lecidea sp.* moleküler ve mikroskopi tekniklerini birleştirerek tanımlamışlardır [55].

Lindblom & Ekman (2006) Liken oluşturan ascomycetes *Xanthoria parietina* da genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısını nükleer ribozomal DNA'nın IGS ve ITS bölgelerindeki sekans varyasyonlarını kullanarak araştırmışlardır. Her iki markırın önemli varyasyon gösterdiğini açıklamışlardır [56].

Cansaran vd. (2006) *Rhizoplaca* liken cinsinin ITS bölgesinin dizi analizini gerçekleştirerek filogenetik ilişkileri konusunda inceleme yapmışlardır. Çalışmada elde edilen filogenetik ağaca göre, genetik yakınlık hakkında bilgi edinilmiştir [57].

Aras vd. (2007) *Aspicilia* liken cinsinin ITS bölgelerinin dizi analizini gerçekleştirerek genetik akrabalıklarını ortaya çıkarmışlardır [58].

Muggia *et al.* (2008) Çalışmalarında Likenleşmiş Ascomycota Lecanorales takımından *Tephromela atra*'nın seçilmiş taksonlarının genetik çeşitliliğini ve fotobiyont ilişkisini ITS, β -tübülün ve PKS gen bölgelerini sekanslayarak araştırmışlardır [59].

Miadlikowska *et al.* (2011) çalışmalarında *Hypogymnia* ve *Cavernularia* cinslerini moleküler filogenetik olarak incelemişlerdir. Bu çalışmada ITS primerini kullanmışlardır [60].

Rolstad *et al.* (2012) Tehdit altında olan iki İskandinav likeni, *Evernia divaricata* ve *Usnea longissima* daki genetik varyasyon ve üreme yapısını karşılaştırmışlardır. Mantar bileşeninin genetik varyasyonunu iki nükleer rDNA gen bölgesi (ITS ve IGS) sekanslayarak değerlendirmişlerdir [61].

HAN *et al.* (2013) çalışmalarında ITS kullanarak Kuzey Çin'den *Peltigera* cinsinden *Peltigera wulingensis* sp. nov. isminde yeni bir tür tanımlamıştır [62].

1.4.2. DNA Dizi Analizi

DNA Dizi Analizi ya da Sıralama, DNA'nın nükleotid dizilerinin saptanması anlamına gelmektedir. 1940'larda DNA baz kompozisyonunu saptama yöntemleri bulunmasına karşın DNA'daki nükleotit dizilerinin doğrudan kimyasal analizi 1960'larda geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin; 1965'de Robert Holley 74 nükleotitlik tRNA molekülünün dizisini bir yıllık bir çalışma sonucunda saptamıştır. 1970'lerde daha etkin ve doğrudan nükleotit dizi analizine yönelik yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Herhangi bir organizmadan çok miktarda saf DNA fragmentleri elde edilmesini sağlayan rekombinant DNA tekniklerinin geliştirilmesine paralel olarak dizi analizi yöntemleri de geliştirilmeye başlanmıştır [63].

DNA dizileme DNA'nın birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz dizisinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. DNA dizileme sıklıkla gen mutasyonlarının tespiti ya da rekombinant DNA oluşum yapılarının tayininde, gen regülasyonunda yer alan genetik kontrol bölgelerini belirlemede ve genlerin etkilerini belirlemede yaygın olarak kullanılır.

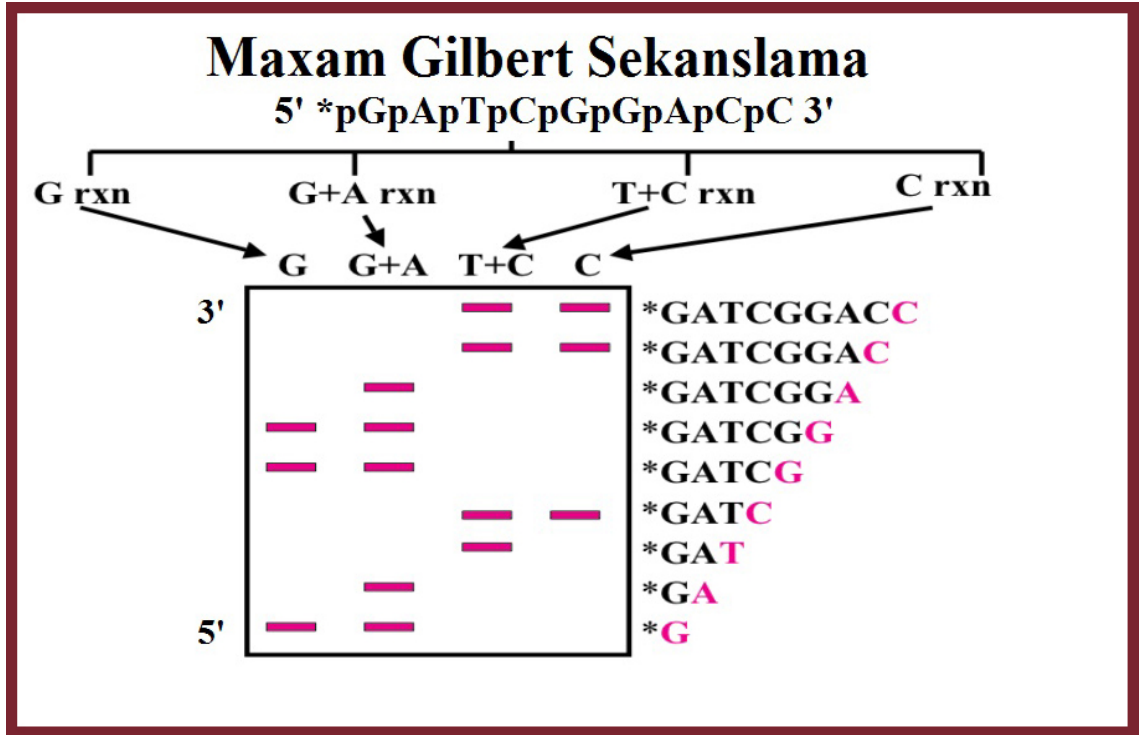
Nükleotid dizilerinin belirlenmesinde iki temel teknik geliştirilmiştir ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar; Allan Maxam ve Walter Gilbert'in Kimyasal Degredasyon Yöntemi ile Fred Sanger ve Coulson'un Zincir Sonlanma Yöntemidir. Maxam-Gilbert'in kimyasal degredasyon yöntemi DNA'nın belirli bazlardan kırılmasına dayanmaktadır. Sanger ve Coulson'un geliştirdiği zincir sonlanma yönteminde ise belirli bir bazda sonlanan bir DNA zinciri sentezi gerçekleştirilmektedir.

Her iki teknik de üç aşamada gerçekleşmektedir. Bu aşamalar; DNA'nın hazırlanması, reaksiyonlar ve yüksek voltajlı jel elektroforezidir. Her iki yöntemde de dizisi saptanacak DNA'ya dört ayrı reaksiyon uygulanmaktadır (her baz için bir tane). Bu dört reaksiyonun ürünleri, bir nükleotit uzunluğu kadar farklı, bir dizi DNA parçacıklarıdır. Dört reaksiyonun ürünleri bir jelde dört ayrı kuyucukta yan yana elektroforez ile ayrıştırılmaktadır. Jel hattındaki her bir bant belirli bir baza karşılık gelmektedir ve jeldeki bantlardan DNA parçacığının dizisi okunabilmektedir [63].

1.4.2.1. Maxam ve Gilbert'in Kimyasal Kırılma Yöntemi

Kimyasal kırılma yöntemin temel prensibi hidrazin, dimetil sülfat ya da formik asit'in, DNA'da bulunan bazıları özgül olarak değiştirmesine ve daha sonra eklenen piperidinin değişikliğe uğramış nükleotitlerin bulunduğu noktalardan zinciri kırmasına dayanmaktadır [64].

Nükleotit dizisi saptanacak olan DNA önce 5' ucundan 32 P ile ya da floresan bir boya ile işaretlenir. DNA'nın iki iplikçığı birbirinden ayrılarak ya da DNA uygun bir restriksiyon enzimi ile kesilerek DNA'nın yalnızca bir ucundan işaretlenmesi sağlanır. Daha sonra DNA molekülleri dört tüpe ayrılarak A, C, G ve T nükleotitlerini değiştirmek ve kırmak için gerekli tepkimeler gerçekleştirilir. Bu sayede tüplerde farklı pozisyonlardaki hedef nükleotitlerden kırılmış DNA parçaları elde edilir. Sonuçta kırılmanın olduğu pozisyona göre hepsi 5' pozisyonlarından işaretli ancak boyları birbirinden farklı bir dizi DNA fragmenti elde edilmiş olur. Elde edilen boyları gittikçe kısalan DNA fragmentleri, jel elektroforezinde birbirlerinden büyüklüklerine göre ayrılır. Otoradyografi uygulanarak bantlar görüntülenir.



Şekil 1.7. Maxam-Gilbert Kimyasal Kırılma Yöntemi [65].

Pürinlerin kırılmasında dimetil sülfat kullanılır. Dimetil sülfat ile metillenen DNA'ya bazik ortamda piperidin uygulanırsa DNA guanin (G) bazından kırılır. Bazik ortam yerine asidik ortam tercih edilirse bu sefer de DNA guanin yerine adenin (A) bazından kırılır [65].

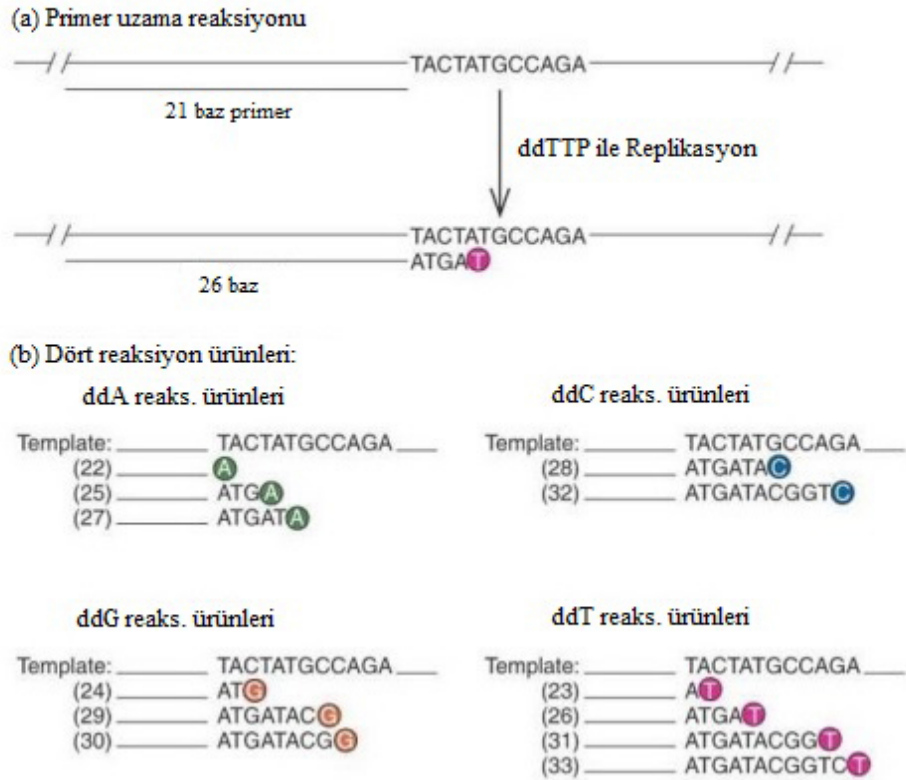
Pirimidin bazlarının kırılmasında ise hidrazin kullanılır. Hidrazin, DNA'yı hem sitozin hem de timin (T) bazından kırar. Bu iki reaksiyonu ayırmak için ise yüksek tuz derişimi (2M NaCl) ve bazik ortam kullanılır. Yüksek tuz derişimi ile bazik ortamda DNA sitozin (C) bazından kırılır.

1.4.2.2. Sanger DNA Dizi Analizi Yöntemi

Sanger yöntemi enzimatik DNA sentezine dayanır. Tehlikeli kimyasallardan uzak ve daha hızlı bir yöntem olduğundan Maxam-Gilbert yöntemine oranla daha çok tercih edilir. Bu yöntem için; Tek zincirli kalıp DNA'ya, dNTP'lere, ddNTP'ye, DNA polimeraza ve serbest OH grubu içeren primere ihtiyaç vardır. Yöntemin temeli DNA polimerazın dNTP'lerin (deoksiribonükleozit trifosfat) yanı sıra deoksiribozun 3'-OH grubu taşımayan ddNTP'leri de (dideoksiribonükleozit trifosfat) substrat olarak kullanabilmesine dayanır. Sentezlenen DNA'ya bir ddNTP'nin katılmasıyla, ddNTP'nin

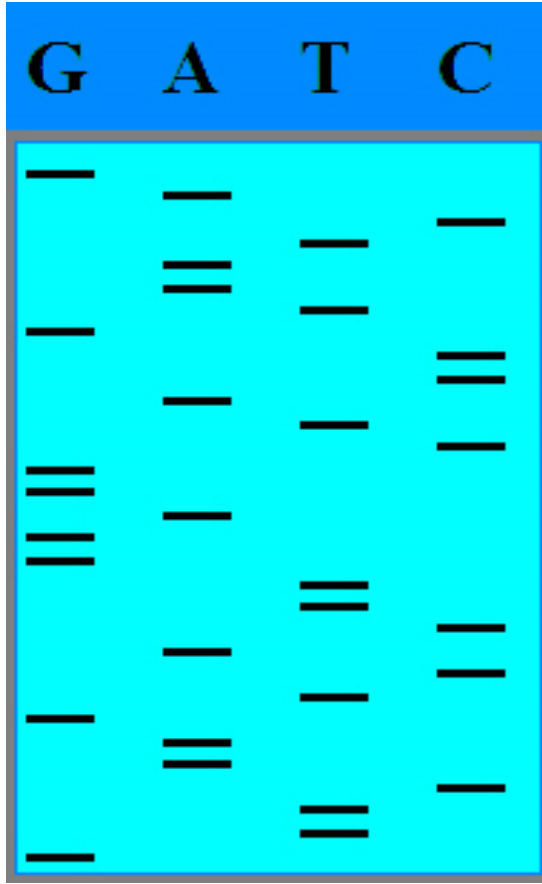
3'-OH grubu olmadığı için kendisine nükleotit ilave edilemez ve zincir sentezi sonlanarak bir DNA parçacığı elde edilir (Şekil 1.8). Dizileme reaksiyonları için dört ayrı tüpte reaksiyon karışımı hazırlanır [65].

SANGER YÖNTEMİ



Şekil 1.8. Dideoksi nükleotitler varlığında DNA sentezi [66].

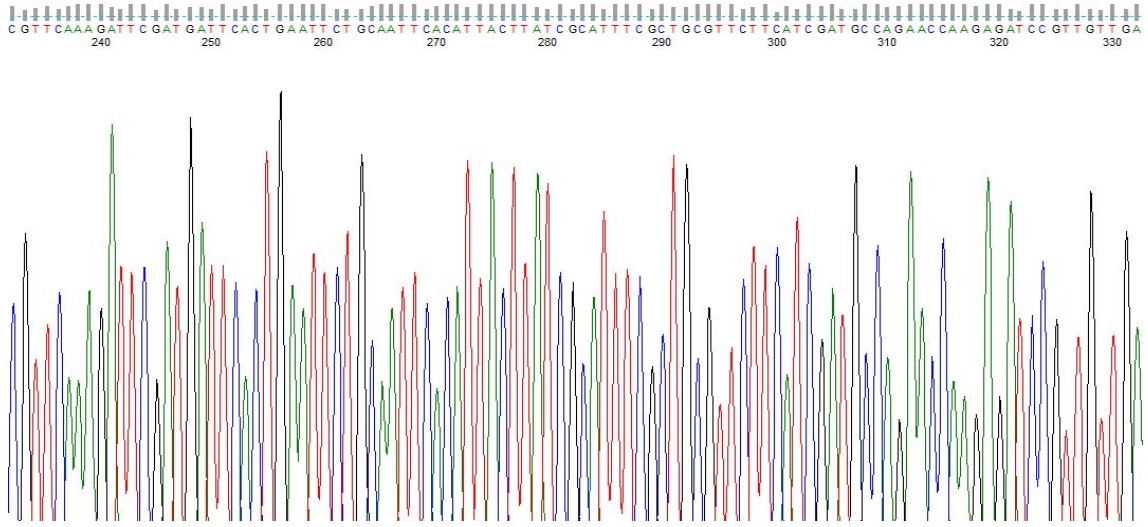
Reaksiyonlar sonucu elde edilen DNA parçalarına elektroforez uygulanarak jel üzerinde yan yana yürütülür. Uygulanan elektriksel alanın etkisi ile DNA parçacıkları en kısıtı en önde olmak üzere jel üzerinde bir merdivene benzer bir görüntü oluşturur (Şekil 1.9). İşaretleme yöntemine göre jel üzerinde, tespit edilen parçacıklar reaksiyon karışımına konulan ddNTP'nin tipine göre okunur. Otoradyogramdaki bu bant verilerinden yararlanılarak 5' yönünden 3' yönüne doğru olan baz dizilimi saptanmış olur [63].



Şekil 1.9. Sentez sonrası DNA bantlarının otoradyografi görüntüsü [66].

1.4.2.3. Otomatik DNA Dizi Analizi Yöntemi

Otomatik dizileme yönteminde de Sanger'in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemden tek farkı radyoaktif izotop yerine floresan boyaların kullanılmasıdır. Yöntemde dört farklı renkte boya kullanılır. Sonuçta, dizinin okunmasını sağlayan dört farklı renkte piklerin oluştuğu bir görüntü (kromatogram) ortaya çıkar (Şekil 1.10.). Timin (T) bazı kırmızı renkle Guanin (G) bazı siyah renkle, Adenin (A) bazı yeşil renkle ve Sitozin (C) bazı mavi renkle gösterilir.



Şekil 1.10. DNA Dizi Analizi sonucu oluşan pikler.

Otomatik DNA dizileme cihazları, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sisteminden meydana gelmektedir. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık meydana getirilir. DNA'nın bulunduğu jel matrisi bu monokromatik ışık ile taranır. Elektroforez boyunca DNA'ya bağlanan floresan boya ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılmaktadır. Uyarılan boya kendi için karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır. Yansıyan ışık demeti bir detektör tarafından kaydedilir. Kaydedilen veriler bilgisayar yazılımlarıyla değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır.

Otomatik dizileme yöntemleri manuel yöntemlere göre daha güvenilir sonuçlar verir. Ayrıca zamandan da tasarruf sağlamaktadır. [64].

Gen bölgesi PCR işlemiyle çoğaltılır, çoğaltılan bu bölgeler florokrom maddelerle işaretli bazlarla tekrar PCR reaksiyonuna (Multiplex Fluorescent PCR) sokulur. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan hedef bölgelerdeki baz dizisi şifresini oluşturan bazlar genetik analizörler (DNA Sequencer) ile tek tek okunur [63].

DNA dizi analizi ile birçok organizmanın genlerinin yapısı ve organizasyonu hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Virüslerin tüm genomları, E.coli ve maya gibi birçok organizmanın genomları aydınlatılmıştır. Genlerin organizasyonu, doğası ve ayrıca gen ürünlerinin değişmesine neden olan mutasyonların sayısı, yeri, çeşidi ile ilgili bilgiler verir. Ayrıca prokaryotik ve ökaryotik genlerde yer alan kontrol bölgelerinin

organizasyonu ile ilgili çalışmalarda ve proteinlerin aminoasit dizilerinin ortaya çıkarılmasında kullanılır [63].

Nükleotit dizilerinin bilgisayar analizleri, klonlanmış parçanın bir genin tamamını mı yoksa bir kısmını mı içerdiğinin anlaşılmasını sağlar. Bu ekzon/intron birleşme noktalarının araştırılması ile çeşitli verilere göre daha önceden ortaya çıkarılmış genlerin DNA dizileri ve proteinlerin aminoasit dizileri ile karşılaştırılarak yapılır [63].

Mutant fenotiplere neden olan DNA bozukluklarının tanımlanmasının yanı sıra, DNA dizi analizi genlerin organizasyonunu (intron ve ekzonların sayısını ve intron-ekzon sınırlarını) belirlemek, genin ürünü olan proteinin yapısı ve görevi hakkında bilgi edinmek ve diğer organizmalardan elde edilen benzer proteinler arasındaki evrimsel ilişkiyi ortaya çıkarmak amacıyla kullanılır [63].

1.4.3. Filogenetik Analiz

Organizmaların evrimsel tarihi filogeni olarak adlandırılır. Filogenetik ise türler/organizma grupları arası genetik bağları ve ilişkileri (evrimsel akrabalığı) araştıran bilim dalıdır. Belirli karakterleri (morfolojik ve/veya genetik) inceler ve benzer karakterleri taşıyan organizmaların genetik olarak birbirine yakın oldukları varsayımından yola çıkar. Moleküler filogenetik kavramı ise günümüzde DNA ve protein dizilerini de içeren moleküler veriler türler arası ilişkileri analiz etmek için kullanılır. Genomlar, mutasyonların birikmesi ile evrimleşirler ve farklı organizmaların genomları arasındaki nükleotid dizisi farkı iki genomun birbirinden ayrılma zamanlamasını yansıtabilir. Farklı genomları karşılaştırarak aralarındaki evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmak mümkündür.

Organizmaların evrimsel tarihinin saptanmasında moleküler veriler kullanılırken bazı varsayımların varlığı söz konusudur:

1. Kullanılan moleküler diziler homologdurlar. Yani ortak bir kaynakları vardır ve zaman içerisinde farklılaşmışlardır.
2. Filogenetik farklılaşmanın iki kola ayrılarak gerçekleştiği varsayılır. Filogenetik ağaçtaki bir dal belirli bir noktada iki kola ayrılır.

3. Bir dizideki her bir pozisyon birbirinden bağımsız olarak evrim geçirmiştir. Diziler arasındaki çeşitlilik kesin filogenetik ağaçların inşası için yeterli bilgi sağlamaktadır [67].

1.4.4. Filogenetik Ağaç

Filogenetik incelemelerde türler arasındaki evrimsel ilişkiyi göstermede en uygun yaklaşım elde edilen verilerin çeşitli akış şemaları ve istatistiksel analizlerle filogenetik ağaca dönüştürülmesidir [67]. Evrimsel ilişkileri görsel olarak ortaya koymak için en uygun araç filogenetik ağaçlardır. Dizileme çalışmaları ile elde edilen bilginin özetlenmesini ve görsel olarak anlaşılabilmesini sağlarlar.

Bunun yanı sıra;

- Genler arası etkileşim
- İlaç tasarımları
- Aşı çalışmalarında patojen suş çeşitliliği
- Genetik hastalıklar ve bulaşıcı hastalıkların epidemiyolojisi
- Yeni genlerin görevlerinin tespiti
- Mikrobiyal ekoloji çalışmalarında da kullanılır.

Bir filogenetik ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Türleşme sırasını ve hangi taksonların yakın ya da uzak akraba olduklarını kaydeder. Ağaç, başlıca bir düğüm (node) ve dallardan (branch) oluşur. Dalları, türlerin atasal popülasyonlarının zaman içerisindeki durumlarını gösterir. Düğümler ise bir türün iki veya daha fazla türev popülasyona ayrıldığı noktaya karşılık gelir [68]. Ağaçtaki öncülü olmayan düğüm köktür. Kök ortak bir atayı temsil eder, ağacın herhangi bir yerinde yer alabilir. Köksüz ağaçlarda ise ortak ata gösterilmeden sadece türler arası ilişki ön plana çıkarılır [69]. Filogenetik ağaçta her bir düğüm evrimsel süreçte ayrılan taksonomik bir gruba karşılık gelir. Ağaçta dış dallar taksonları, iç dallar ve düğümler ise taksonlar arası ilişkiyi yansıtır. Birbiri ile yakın ilişkili türler ağaçta birbirine komşu dallarda yer almaları ile ayırt edilirler. Ağaç dallarının paterni topoloji olarak adlandırılır ve dal uzunluğu genellikle dalda oluşmuş değişikliklerin sayısını belirler [69].

Filogenetik analizlerde ilk adım incelenecek dizinin elde edilmesidir. Daha sonra bu diziler istenirse referans dizi denilen daha önce saptanmış ve üzerinde uzlaşılarak doğruluğuna karar verilmiş dizilerle karşılaştırılabilir. Son yıllarda moleküler filogeni alanında kaydedilen gelişmeler neticesinde çeşitli türlerden elde edilen diziler GenBank, EMBL gibi özel veri tabanı sistemlerinde toplanarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur [69].

1.4.4.1. Filogenetik Ağaç Oluşturmada Kullanılan Yöntemler

Günümüzde kullanılmakta olan yöntemler temel olarak iki başlık altında toplanmaktadır.

Karakter Temelli Yöntemler

1. Maximum parsimony (MP)
2. Maximum likelihood (ML)
3. Mr. Bayes

Mesafe Temelli Yöntemler

1. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)
2. Neighbour Joining (NJ)

1.4.4.1.1. Karakter Temelli Yöntemler

Üzerinde çalışılan taksonlar arasındaki değişken, kalıtsal ve biri diğerinden bağımsız her bir özellik ya da karakter hangi taksonun hangisiyle yakın akraba olduğu konusunda bize yardım eder.

1.4.4.1.1.1. Maximum Parsimony (MP) Farklılıkları En Aza İndirme Yöntemi

İncelenen diziler ya da genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gerekli en az mutasyonların saptanmasına dayanan bir yöntemdir. Maksimum Parsimony (MP), minimum evrimsel metot (parsimony=tutumluluk) olarak tanımlanabilir. Evrimsel biyolojide tutumluluk demek, evrimsel süreçte neler olduğuna ilişkin sonuca varılırken, araştırmacının karmaşık yerine basit açıklamaları, başka bir deyişle açığa çıkan evrimsel değişimin miktarını azaltan veri yorumlarını tercih etmesi demektir. Parsimony'e göre tercih edilen ağaç, açığa çıkmış olan evrimsel değişimin toplam miktarını en aza indirgeyen ağaçtır [68]. MP yöntemi uygulanırken, dizi pozisyonlarının farklı

puanlamaları tercih edilebilir. Örneğin; korunmuş bölgede gerçekleşen bazı mutasyonlar, değişken bölgedeki mutasyonlardan daha çok vurgulanmak istenebilir. Ya da transversiyonlar transisyonlardan daha önemli olarak vurgulanabilir. MP analizi ile en iyi sonuçlar dizi çiftleri arasındaki benzerliklerin çok güçlü olduğu ve az sayıda dizinin olduğu durumlarda alınır.

MP ile ağaçların oluşturulmasında “kesin” ve “tahmini” yaklaşımlar söz konusudur. Kesin yaklaşımda olası tüm ağaçlar gözden geçirilir ve kullanılan optimalite ölçütüne en uygun ağaç belirlenir. Çok zaman alıcıdır ve yirmiden fazla örnekleme varlığında uygun değildir. Çok sayıda dizinin bulunduğu durumlarda “tahmini” yaklaşım uygulanmaktadır. En tutumlu ağaçların güvenirlilik dereceleri istatistiksel olarak da değerlendirilebilir. Bu probleme yönelik yaklaşımlardan biri bootstrap (seç-bağla testi) olarak adlandırılır. Bootstrap araştırması elde edilen ağaçların dallarının parsimoni kriteri kullanılarak istatistiksel yönden en güvenilir olan dalları belirlemede kullanılır [70].

Seç-bağla testinde, bilgisayar mevcut veri setinden tekrarlı örnekleme yoluyla yeni bir veri seti oluşturulur. Örneğin, çalışmada 700 baz çiftlik bir dizi bulunuyorsa bilgisayar bu pozisyonlardan birini rastgele seçmek ve bunu yeni veri setinde ilk öge olarak kullanmakla seç-bağla testine başlar. Daha sonra, rastgele seçtiği bir pozisyon yeni veri setinin ikinci veri noktasını oluşturur (ikinci veri noktasının birincisinin aynı olma sansı $1/700$ 'dür). Bilgisayar orijinal verinin rastgele bir örneklemesini temsil eden 700 baz çifti içeren yeni bir veri seti oluşturuncaya kadar bu işleme devam eder. Sonra, bu yeni veri seti filogeniyi hesaplamak için kullanılır. Bu işlemi tekrarlamak suretiyle araştırmacı yeniden örneklenmiş veri setinden oluşan ağaçlarda belli bir dalın açığa çıkma yüzdesini % 50, %80 ya da % 100 şekilde ortaya koyar. Bootstrap değeri % 0 ile % 100 arasında değişir. Kress ve arkadaşlarının (2002) karakterize ettiği bootstrap destek kriterlerine göre, \geq % 85 güçlü, % 70-85 arası orta, %50-70 arası zayıf ve $<$ % 50 çok zayıf şeklinde tanımlanmıştır. Bootstrap desteğinin % 70 ya da daha büyük oluşu genellikle doğru filogeninin tanımlanması ile ilişkilendirilir. Eğer, belli bir dal için bootstrap desteği % 50'nin altında ise; ağacın bu kısmındaki dallanma modelinin belirlenemediği sonucuna varılır ve filogenetik ağaçta bu dal tek düğümden çok çatallı olarak verilir. Bu durum moleküler sistematikte politomi olarak adlandırılır [71].

1.4.4.1.1.2. Maximum likelihood (ML) En Yüksek İhtimal Yöntemi

Joseph Felsenstein tarafından 1981 yılında MP'ye alternatif olarak ortaya konulmuş bir yöntemdir [72]. Araştırmacıya sunulan bütün bilginin daha etkili kullanmak ve olası birçok ağaç içerisinde en iyi ağacı seçmede istatistiksel testler kullanma olanağı yaratmak için ortaya konmuştur. Bu yöntem, farklı tipteki nükleotit değişikliğinin açığa çıkma olasılıklarını tanımlayan bir matematiksel formül ve dal uzunlukları bilinen belli bir ağaç verildiğinde, bu belli DNA dizisi setini elde etme olasılığı nedir sorusunu sormaktadır. Bu yöntem için bir bilgisayar programı, her ağaç topolojisinin değerlendirir veya gözlenen verinin oluşturulması olasılığını hesaplar.

Eğer ağaç doğruysa her dalın oluşturulma olasılığı toplamı, gözlenen verinin oluşturulması olasılığını temsil eder. Bu olasılık ağaçların olasılığı olarak temsil edilir. Böylece, yarışan ağaç topolojilerinin kabul ya da reddi için kriter en yüksek olasılığı olan ağacı seçmektir, en olası ağaç en iyi ağaçtır. Ancak olasılık metotları, hesaplamada yavaşlar ve bu teknikle çok büyük veri setleri, parsimoni yöntemleriyle olduğu kadar kapsamlı analiz edilemezler.

1.4.4.1.1.3. Bayes Metodu

Filogenetiğin en popüler metodudur. Temelde Maximum Likelihood metoduna benzer, ancak önceki (prior) olasılık kullanımı ile bu yöntemden ayrılır. Var olan gözlemlere dayanarak gözlenmeyen bir şey hakkında sonuç çıkarma temeline dayanır. Bu yöntemde ağaç seçiminde, “önceki olasılık”, analiz öncesinde tüm olası ağaç topolojileri için geçerli olan olasılıktır. Ağacın oluşturulmasından önce her bir topolojinin olasılığı birbirine eşittir. “Şarta bağlı olasılık”, dizi hizalanmasında gözlenen karakterlerin değişikliğe uğrama frekansıdır. Bu iki olasılık değeri, Bayes algoritması tarafından, gözlemlere en fazla uygunluğu gösteren en olası ağaçların saptanması için kullanılır. Aşağıdaki eşitliğin geçerli olduğu bu yöntem ML yönteminden daha hızlıdır ve daha geniş çapta veri kümelerini kullanabilir.

Sonraki olasılık = (Önceki olasılık x Şarta bağlı olasılık) / Toplam olasılık

1.4.4.1.2. Mesafe Temelli Yöntemler

Mesafe temelli yöntemler; dizi hizlanması sonucu elde edilen evrimsel mesafelerle bir veri matrisi oluşturularak daha sonra matristeki mesafe skorlarına göre tüm taksonlar için bir filogenetik ağaç oluşturma esasına dayanmaktadır [73]. Ağacın dalları boyunca

ortaya çıkan değişiklik sayısı diziler arasındaki uzaklığı gösterir [74]. Tercih edilen ağaçlar, taksonlar arasındaki mesafeyi en aza indirgeyen ağaçlardır [75].

Bu yöntemde kullanılan algoritmalar, kümelenme temelli veya en iyi durum (optimum durum) temelli algoritmalar olarak ikiye ayrılırlar. Mesafe temelli yöntemlerden en çok kullanılan ikisi; UPGMA ve Neighbour Joining yöntemleridir.

1.4.4.1.2.1 Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages (Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırılıksız Çift Grup Metodu)

Bir takson için uzaklık matrisi gözden geçirilirken, en küçük uzaklık matrisi baz alınır. Hızlı bir yöntemdir ve geniş data setlerini hızlı bir şekilde analiz edebilir, fakat karakter analizinde kullanılamazlar. Bir atanın iki yavrusunun aynı miktarda değişime uğradığını (dalların eşit uzunlukta olduğunu) savunması gerçekçi değildir [68].

1.4.4.1.2.2 Neighbour Joining (Komşu Birleştirme) Metodu

Bu metod içerik olarak “cluster” analizle alakalıdır. Ancak, dallar boyunca moleküler değişikliklerin eşit olmayan oranları için metod izin verir. Analizin her adımında uzaklık matrisi, düğümlerin her çifti arasında ayarlanan dal uzunluklarının net etkisine sahiptir. Bunun anlamı; tüm diğer düğümlerden farklılıktır. Bu yöntemde bir tane ağaç oluşturulur ve geniş veri kümelerinin analizi yapılabilir. Fakat tüm olası ağaç topolojileri değerlendirilemez [69].

2. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Liken Materyali

Liken örnekleri Erciyes Dağı'ndan toplanmıştır. Örneklerin toplanması sırasında, arazide kullanılan klasik ekipmanın yanında likenler için gerekli olan, pelür kağıttan yapılmış torbalar, örneklerin substratlarıyla birlikte toplanması için çekiç ve keski gibi aletler ve taşıma sırasında hasar görmemesi için sarmak üzere yumuşak kağıt kullanılmıştır. Bazı örnekler de ERC'den temin edilmiştir.

Tayinde, OLYMPUS SZ60 stereomikroskop, LEICA DM1000 ışık mikroskobu, oküler mikrometre ve teşhis için potasyum hidroksit (K), kalsiyum hipoklorit (C) ve parafenilendiamin (Pd) gibi bazı kimyasal reaktifler kullanılmıştır.

Liken örneklerinin toplandığı lokaliteler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Liken örneklerinin toplandığı lokaliteler

Tarih	Örnek No	Lokalite	Yükseklik (m)
06.04.2015	MB0.001	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m
06.04.2015	MB0.002	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m

06.04.2015	MB0.003	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m
06.04.2015	MB0.004	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m
06.04.2015	MB0.008	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m.
06.04.2015	MB0.010	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m.
06.04.2015	MB0.011	Türkiye, Kayseri, Talas; Ali Dağı, silisli kayalar üzerinde, 38° 40' 476" K, 35° 32' 993" D.	1355 – 1380 m.
29.06.2003	MGH0.018	Türkiye, Kayseri, Erciyes Dağı, Yılanlı Dağı, Koyunbaba mevki, silisli kayalar üzerinde, 38° 43' K, 35° 26' D.	1205 m.
16.07.2002	MGH0.025	Türkiye, Kayseri, Erciyes Dağı, Koç Dağı, 38° 42' K, 35° 32' D.	2270 m.
27.05.2003	MGH0.139	Türkiye, Kayseri, Erciyes Dağı; İncesu, Sürtme, silisli kayalar üzerinde, 38° 35' K, 35° 36' D.	1100 m.

2.2. Yöntem

2.2.1. Toplama Yöntemi

Liken örnekleri toplanırken, örnekler substratları ile birlikte alınmış; eğer mümkünse üreme yapılarını üzerinde bulduran tallusların toplanmasına dikkat edilmiştir. Ağaç kabuğu üzerindeki örneklerin toplanması aşamasında keskin bıçak ve ağaç keskisinden yararlanılmıştır. Örneklerin tam ve zarar görmemiş bir şekilde alınmasına, aynı zamanda örneğin toplandığı ağaca da zarar verilmemeye dikkat edilmiştir. Kaya üzerinde gelişen liken örnekleri toplanırken mümkünse kenar ve merkezi kısımlarının

korunarak liken tallusunun bütün bir şekilde alınmasına dikkat edilmiştir. Araziden toplanan liken örnekleri yumuşak kağıt torbalar içerisine yerleştirilmiştir. Bu torbaların üzerine lokalitenin bilgileri, toplama tarihi, habitatu, substrat tipi gibi temel bilgiler kurşun kalemle not edilmiştir. Toplanan örnekler yumuşak kağıt havlulara sarılarak kağıt torbalar içine yerleştirilerek laboratuvara getirilmiştir.

Herbaryuma getirilen materyaller, torbalardan çıkartılarak oda sıcaklığında belirli bir süre kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan örnekler özel liken zarflarına alınarak etiketlenmiştir.

2.2.2 Tayin Yöntemi

Topladığımız likenlerin tayininde çeşitli tayin anahtarlarından faydalanılmıştır [76, 77, 78, 79]. Morfolojik incelemelerin hepsi stereomikroskop altında yapılmıştır. Anatomik incelemeler için kesitler stereomikroskop altında alınmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. Bunun yanında türlerin teşhisinde bazı kimyasal reaktifler kullanılmıştır.

Kullanılan kimyasal reaktifler ve sembolleri şunlardır:

K: Potasyum hidroksit çözeltisi. Yaklaşık % 10'luk bir çözelti gereklidir ancak konsantrasyon çok kritik değildir. Bu çözelti kapalı bir kap içinde uzun süre saklanabilir.

C: Kalsiyum hipoklorit çözeltisi. Bu çözelti evlerde kullanılan birçok çamaşır suyunun ana bileşimidir. Sadece birkaç ay boyunca aktiftir bu nedenle sık sık test edilmelidir.

KC: K uygulandıktan yaklaşık 30 saniye sonra bir damla C damlatılır.

CK: C uygulandıktan yaklaşık 30 saniye sonra bir damla K damlatılır.

Pd: Parafenilendiamin. Bu çözelti stabil değildir ve bir kristalin alkol içinde çözülmesi ile hazırlanır. Belirli aralıklarla referans türler üzerinde test edilmelidir (Örneğin, *Parmelia sulcata*'nın medullası sarı – kırmızı arası bir renge döner). Pd reaksiyonunun gelişmesi bir veya iki dakika alabilir, bu yüzden negatif sonuç kararına varmadan önce biraz beklenmelidir veya birkaç defa uygulanmalıdır. Pd'nin karsinojen olduğu düşünülmektedir, bu yüzden bu hazırlık ve uygulama aşamalarında çok dikkatli davranılmalıdır.

Bulgular kısmında, bu reaktiflerden tallus ve medullaya birer damla damlatıldığında reaksiyon verip vermediği belirtilmiştir.

2.2.3. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için 2 farklı yöntem denenmiştir. Bunlar; Qiagen Dneasy Plant Kit ile izolasyon yöntemi (modifiye edilmiş) [80] ve Aras ve Cansaran (2006) tarafından belirlenmiş mini prep yöntemidir [81]. Qiagen Dneasy Plant Kit yöntemi çalışmalarımızda olumlu sonuçlar vermiştir. Bu yöntemin safhaları şunlardır;

1. Liken örneğinden alınan apotesyum ya da tallus parçaları havan ve dibek kullanılarak ezilir.
2. Örnekler 400 µl AP1 Buffer eklenerek eppendorf tüplere konulur.
3. Üzerine 4 µl RNaz eklenir ve Vorteks yardımıyla karışması sağlanır.
4. Tüpler 65 °C su banyosunda belirli aralıklarla karışması sağlanarak 30 dk. bekletilir.
5. Su banyosundan çıkarılan tüplere 130 µl P3 Buffer eklenir ve karıştırılır. Daha sonra örnekler 5 dk. süreyle buzda bekletilir.
6. Buzdan alınan örnekler 14000 rpm (20000 x g)'de 5 dk. santrifüj yapılır.
7. Tüplerin üst kısmında kalan süpernatant pipet yardımıyla mavi kapaklı spin kolonlu tüplere (QIAshredder spin column) alınır. 14000 rpm'de 2 dk. santrifüj yapılır.
8. Tüplerin alt kısmındaki sıvı kısım 2ml'lik yeni bir eppendorf tüpe alınır. Üzerine 1.5 hacim AW1 Buffer eklenir ve pipet ile iyice karıştırılır.
9. Bu karışımdan 650 µl beyaz kapaklı spin kolonlu tüplere (DNeast Mini spin column) eklenir. Daha sonra 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj yapılır. Santrifüj sonrasında alt kısımdaki 2 ml'lik toplama tüplerinde biriken sıvı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır. Bu adım eppendorf tüpte kalan karışım için tekrarlanır.
10. Beyaz üst kısım 2ml'lik yeni bir toplama tüpüne konularak üzerine 500 µl AW2 Buffer eklenir. 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj yapılır. Alt toplama tüplerinde kalan sıvı kısım dikkatli bir şekilde spin kolonla temas etmesi engellenerek uzaklaştırılır.

11. Daha sonra üzerine tekrar 500 µl AW2 Buffer eklenerek 2 dk. 14000 rpm'de santrifüj yapılır.
12. Beyaz kapaklı spin kolon dikkatli bir şekilde çıkarılarak 1.5 ya da 2 ml'lik yeni mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir.
13. Üzerine 50 µl AE Buffer eklenerek 5 dk. oda sıcaklığında bekletilir. Daha sonra 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
14. Santrifüj sonrasında üzerlerine bu kez 25 µl AE Buffer eklenir ve 5 dk. oda sıcaklığında bekletilir. 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilir.
15. Spin kolon uzaklaştırılır ve DNA mikrosantrifüj tüpünde çözülmüş halde elde edilir.

Aras ve Cansaran (2006) tarafından belirlenmiş mini prep yöntemi likenler için özel olarak gerçekleştirilmiş bir metot olması nedeni ile bu geliştirilen metot da çalışmalarımızda olumlu sonuç vermiştir [81]. Bu yöntemin safhaları şöyledir;

1. Örnekten alınan 0.1g tallus sıvı azot içerisinde ezilir. 1,5 ml' lik ependorf tüplerine konulur.
2. Örnekler 1 ml DNA ekstraksiyon tamponu {50mM Tris (pH 8.0), 50mM EDTA (pH 8), 10ml LiCl (4M), 1g CTAB, % 2 PVPP} ve 10 µl merkaptotanol eklenir.
3. 65°C olan su banyosunda arada karışması sağlanarak 15 dk. bekletilir. Sonra da oda sıcaklığına alınarak soğuması beklenir.
4. 0.5ml Kloroform/iso-amilalkol (24:1v/v) eklenir ve çok iyi karıştırılır.
5. Örnekler 14000rpm' de 2dk santrifüj işlemi yapılır.
6. Süpernatant (yaklaşık 0.8ml) yeni bir ependorfa alınır. Üzerine bir hacim isopropanol eklenerek yavaşça karıştırılır.
7. Örnekler buz üzerinde 15 dk. bekletilir.
8. 14000rpm'de 2 dk. santrifüj işlemi uygulanır.
9. Süpernatant atılarak ependorfta kalan DNA % 70' lik etanolle yıkanır. Etanolün tamamen uzaklaşması beklenir.

10. Pellet halindeki DNA 30-60µl TE (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA pH 8.0) içerisinde çözülür.

11. 10 mg/ml RNaz eklenerek 37°C' de 30dk bekletilir.

2.2.4. PCR Analizleri

Mantar DNA'sına ait ITS 1F (5' CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A 3') ve evrensel ITS 4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') primerleri kullanılarak 50 µl toplam hacim içerisinde, Thermocycler cihazında aşağıdaki bileşen ve koşullarda PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.2. ITS için PCR karışımı

Bileşenler	Miktar (µl)
PCR Tamponu	5
MgCl ₂	5
dNTP karışımı	2
ITS 1F	0.5
ITS 4	0.5
Taq Polimeraz	0.2
DNA	4
ddH ₂ O (Steril)	32.8
Toplam	50

Tablo 2.3. ITS için PCR döngü şartları

Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
95 °C (DNA'nın ön denatürasyonu)	4 dakika	1
94 °C (DNA'nın denatürasyonu)	1 dakika	7
55 °C (Bağlanma sıcaklığı)	1 dakika	
72 °C (Uzama safhası)	2 dakika	
94 °C (DNA'nın denatürasyonu)	1 dakika	33
52 °C (Bağlanma sıcaklığı)	1 dakika	
72 °C (Uzama safhası)	2 dakika	
72 °C (Final uzama)	5 dakika	1
4 °C (Bekleme sıcaklığı)	∞	-

2.2.5. Agaroz Jel Elektrofrez

Amplifikasyon ürünlerinin elektroforetik ayırımı %1.6'lık agaroz jelinde yapılmış, jel 0.5µl/ml etidyum bromür ile boyanmıştır. 20 kuyudan oluşan jel tepsileri ve yükleme tamponu kullanılmıştır (%40 sükröz ve % 0.25 bromofenol mavisi). (Fermentas) 100 bç DNA ladder moleküler ağırlık belirteci ile beraber 1X TAE (Tris, Asetik Asit, EDTA) tamponu kullanılarak 75 voltta 1,5 saat elektroforez gerçekleştirilmiştir.

2.2.6. DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi Ankara Üniversitesi Teknokent'te bulunan REFGEN firması tarafından, 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems HITACHI) cihazında hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

ITS1F ve ITS4 primerleri ile küçük alt ünitenin sonu, ITS1, 5.8 geni, ITS2 ve büyük alt ünitenin ucunu içeren bölge çoğaltılıp dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Olası okuma

hataları Cluster X programı ile çözülmüştür. Erciyes Dağı'ndan toplanan liken örneklerinin dizi analizi çıkartılmıştır ve yapılacak olan makale ile birlikte Gen Bankasına sunulacaktır.

2.2.7. Filogenetik Analiz

Erciyes Dağı'ndan toplanan liken örneklerine ait diziler ve Gen bankasından indirilmiş olan diziler sıralanmış, tüm veriler Mega 6 programı [82] ile analiz edilip dendrogramlar elde edilmiştir. Bu dendrogramlar Bulgular kısmında verilmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Türlerinin Deskripsiyonları

3.1.1. *Circinaria* Cinsi

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Lecanoromycetes

Order: Pertusariales

Family: Megasporaceae

Genus: *Circinaria* Link.

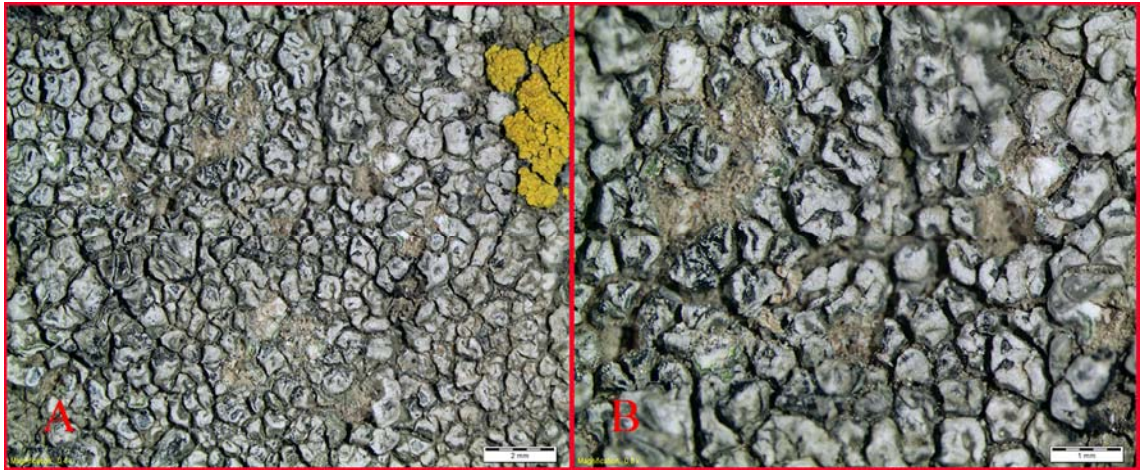
Species: *Circinaria mansourii* (Sohrabi) Sohrabi

3.1.1.2. *Circinaria mansourii*

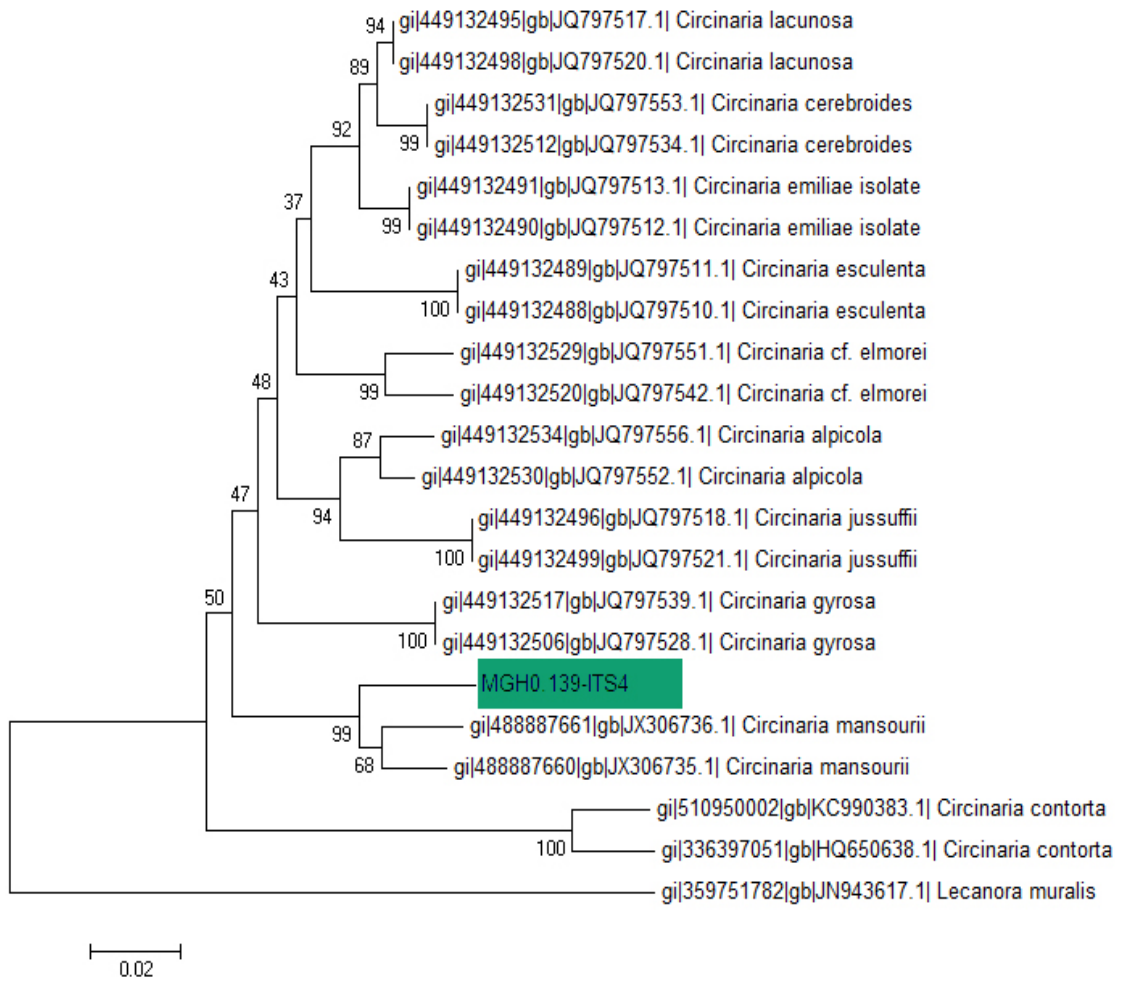
Tallus saksikol, beyazımsı renkte. Kısa ve küçük areollere ve alt yüzeyinde yer alan oldukça küçük rhizomorf benzeri uzantılara sahiptir. Rhizomorf'lar da alg hücreleri bulunmaz, genellikle bitki çöküntülerine tutunurlar. Areoller düzensiz ve ayırık, (0.3–)0.5–0.8–1.1(–1.2) µm çapında. Protallus mevcut değil. Yüzeyinde yarıklar ve çatlaklar bulunur. Üst yüzey bazı kısımlarda kısmen kahverengi. Apotesyum düzensiz şekilli, çok sayıda bulunur ve areollere gömük olarak yer alır, (0.15–)0.2–0.25–0.3(–0.4) µm çapında.

Şuana dek sadece İran'dan kaydedilmiştir. Step benzeri habitata sahip dağlık alanların açık kısımlarında kalkerli topraklar üzerinde gelişir.

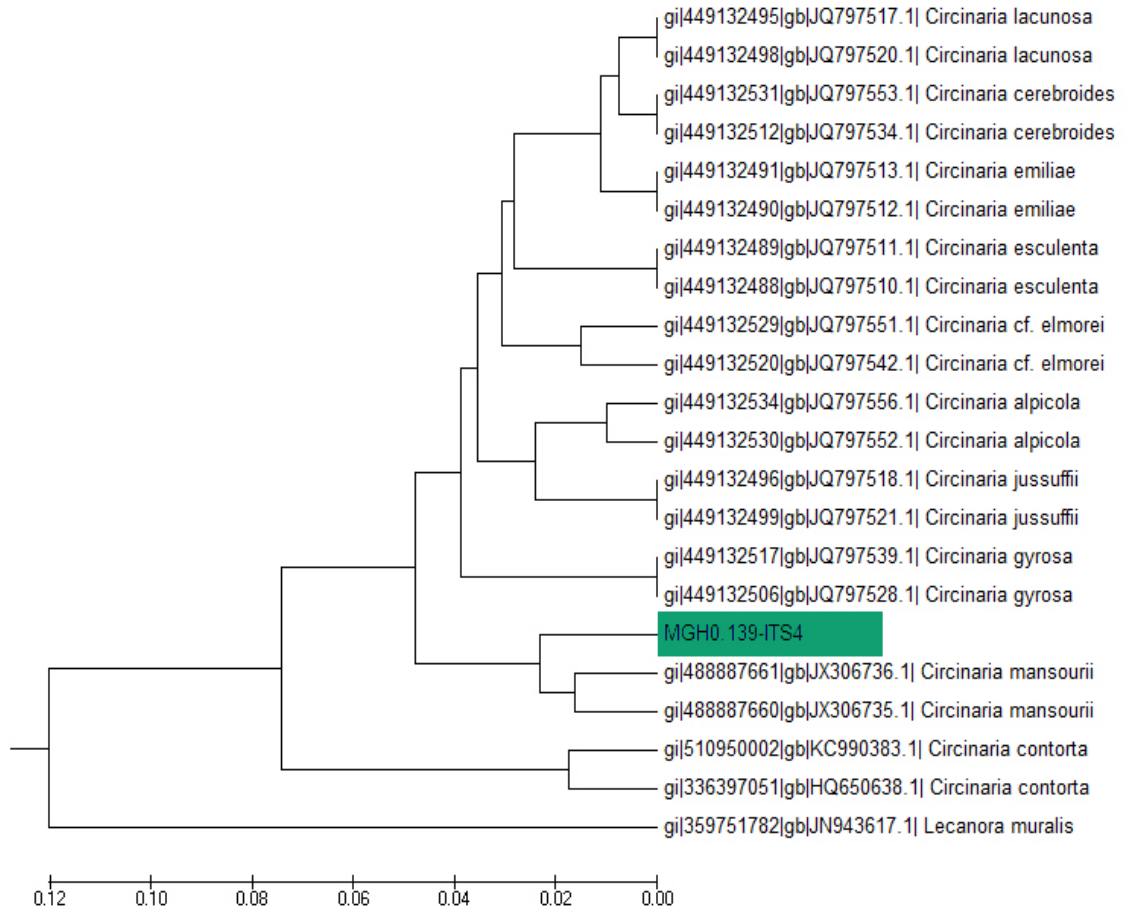
Kimyasal Testler: Korteks ve medulla; K– / C– / KC– / Pd–.



Şekil 3.1. *Circinaria mansourii* (MGH0.139)'nin morfolojik görüntüsü. A. Tallus, B. Apotesyum.



Şekil 3.2. *Circinaria mansourii* (MGH0.139)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.3. *Circinaria mansourii* (MGH0.139)'nin UPGMA dendrogramı.

Oluşturulan dendrogramların her ikisi de incelendiğinde MGH0.139 numaralı örnek *Circinaria mansourii* türleri ile bir arada dallanma göstermiştir. Bu gruba en yakın dallanmayı *Circinaria contorta* (Hoffm.) A. Nordin, Savić & Tibell türlerinin olduğu grup göstermiştir. *C. mansourii* ile *C. contorta* arasında ki en belirgin özellik apotesyum şeklidir. *C. contorta*' da apotesyum genellikle yuvarlaksı yapıda iken, *C. mansourii* türünde apotesyum düzensiz şekillidir.

3.1.2. *Aspicilia* Cinsi

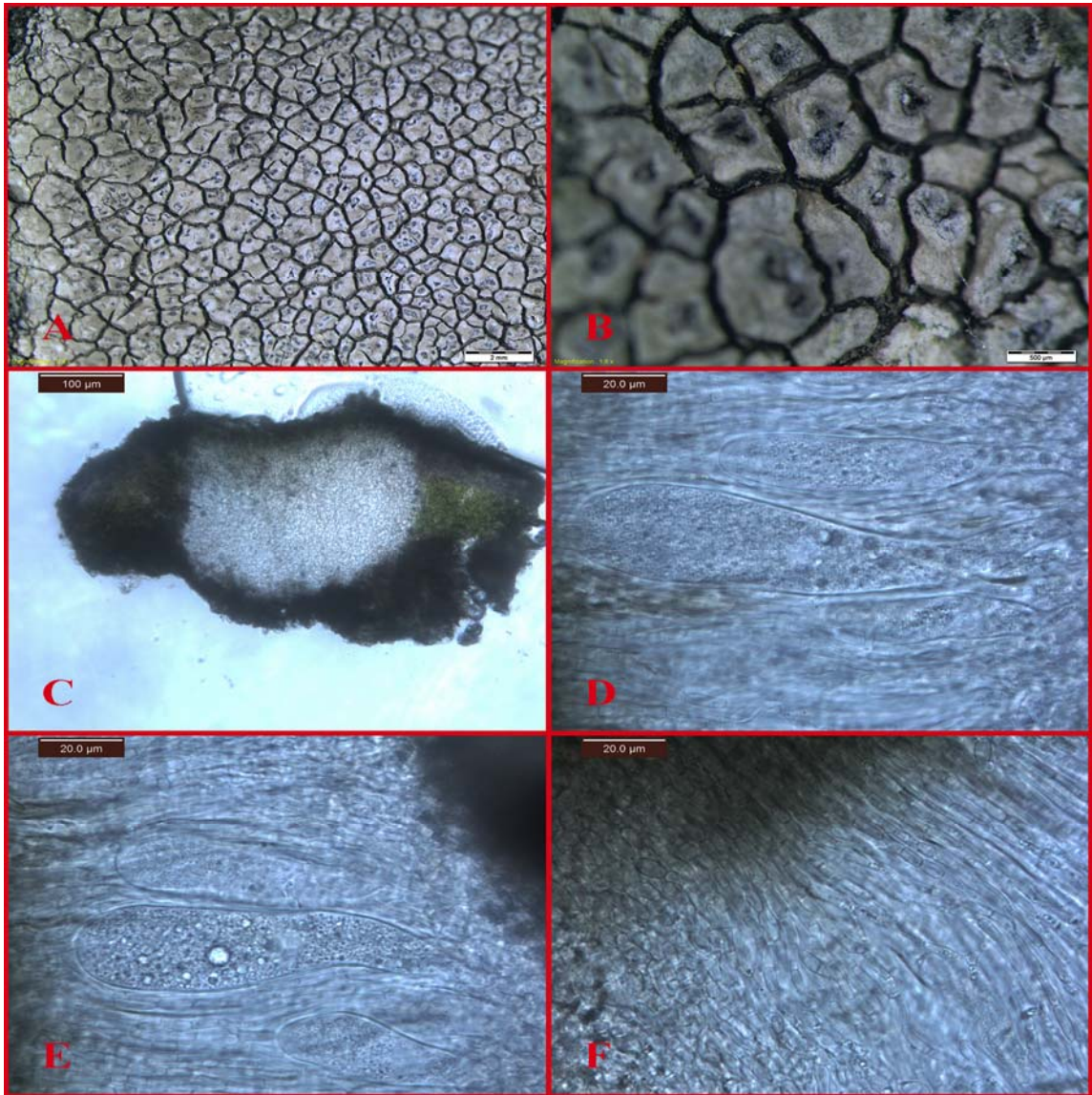
Kingdom: Fungi
 Division: Ascomycota
 Class: Lecanoromycetes
 Order: Pertusariales
 Family: Megasporaceae
 Genus: *Aspicilia* A.Massal.
 Species: *Aspicilia cineria* (L.) Körb.

3.1.2.1. *Aspicilia cinerea*

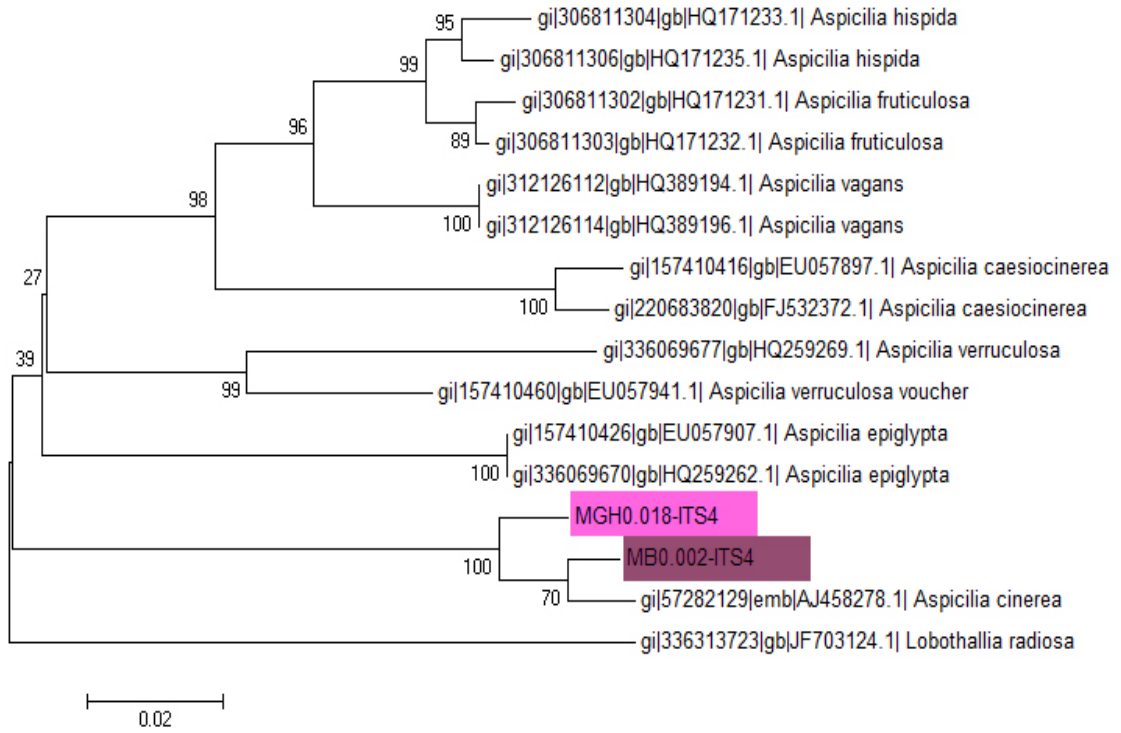
Tallus areolat, 2–3.5 cm çapında. Areoller genellikle düzensiz, belirgin yarıklarla ayrılmış, (0.3–)0.6–1–1.3(–1.4) mm çapında. Tallus üst yüzeyi beyazımsı gri, bazen de sarımsı beyaz. Apotesyum aspicilioid tip, çok sayıda, areol başına 1 ile 10 arasında değişen sayılarda, (0.15–)0.2–0.25–0.3(–0.35) mm çapında. Apotesyum diski siyah renkli. Epihimenyum yeşilimsi veya kahverengimsi yeşil. Himenyum hiyalin. Parafizler moniliform (basit). Askus klavat, (80–)82–98–113(–120) x 14–19–25(–26) µm boyutlarında, spor gelişimi yok.

Subarktik ve arktik-alpin yayılış alanına sahiptir.

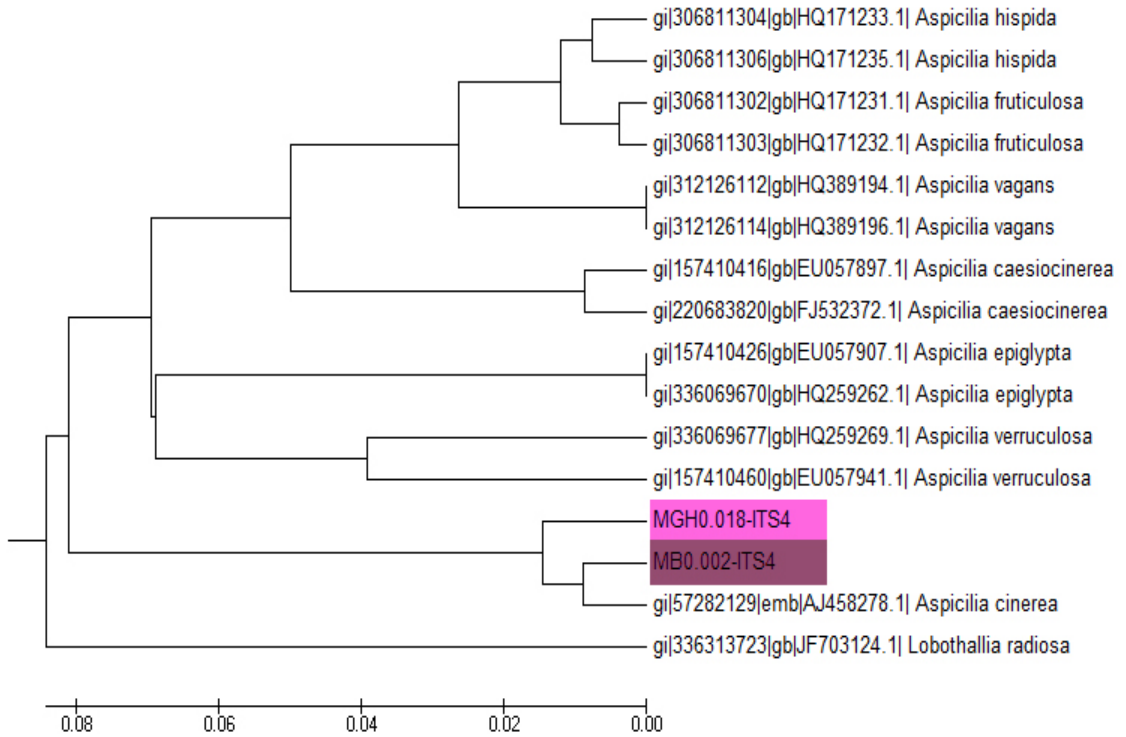
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K– / C– / KC– / Pd+ sarı.



Şekil 3.4. *Aspicilia cinerea* (MB0.002 ve MGH0.018)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Tallus, B. Apotesyum, C. Himenyum, D-E. Askus, F. Parafiz.



Şekil 3.5. *Aspicilia cinerea* (MB0.002 ve MGH0.018)'nın Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.6. *Aspicilia cinerea* (MB0.002 ve MGH0.018)'nın UPGMA dendrogramı.

NJ ve UPGMA dendogramlarının her ikisinde de MGH0.018 ve MB0.002 numaralı örneklerimiz *Aspicilia cinerea* türü ile dallanma göstermiştir. Bu grup diğer türlerin oluşturduğu gruptan ayrı dallanma göstermiştir. En yakın dallanma gösteren diğer grup ise *Aspicilia epiglypta* (Norrl. ex Nyl.) Hue türlerinin yapmış olduğu dallanmadır. *A. cinerea* ve *A. epiglypta* türleri arasında ayırt edici en belirgin özellik conidia boyutudur. *A. cinerea*' da conidia 11–16 µm uzunluğunda iken, *A. epiglypta*' da 15–28 µm uzunluğundadır. Ayrıca *A. cinerea* kutupaltı ve arktik-alpin bölgelerde yayılış gösterirken *A. epiglypta* kıyı bölgelerde yayılış gösterir. *Aspicilia intermutans* ile oldukça benzerdir. Fakat *A. intermutans* daha küçük conidia ve daha geniş olgun askosporlara sahip olması ile farklılık gösterir.

3.1.3. *Lecidea* Cinsi

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Lecanoromycetes

Order: Lecideales

Family: Lecideaceae

Genus: *Lecidea* Ach.

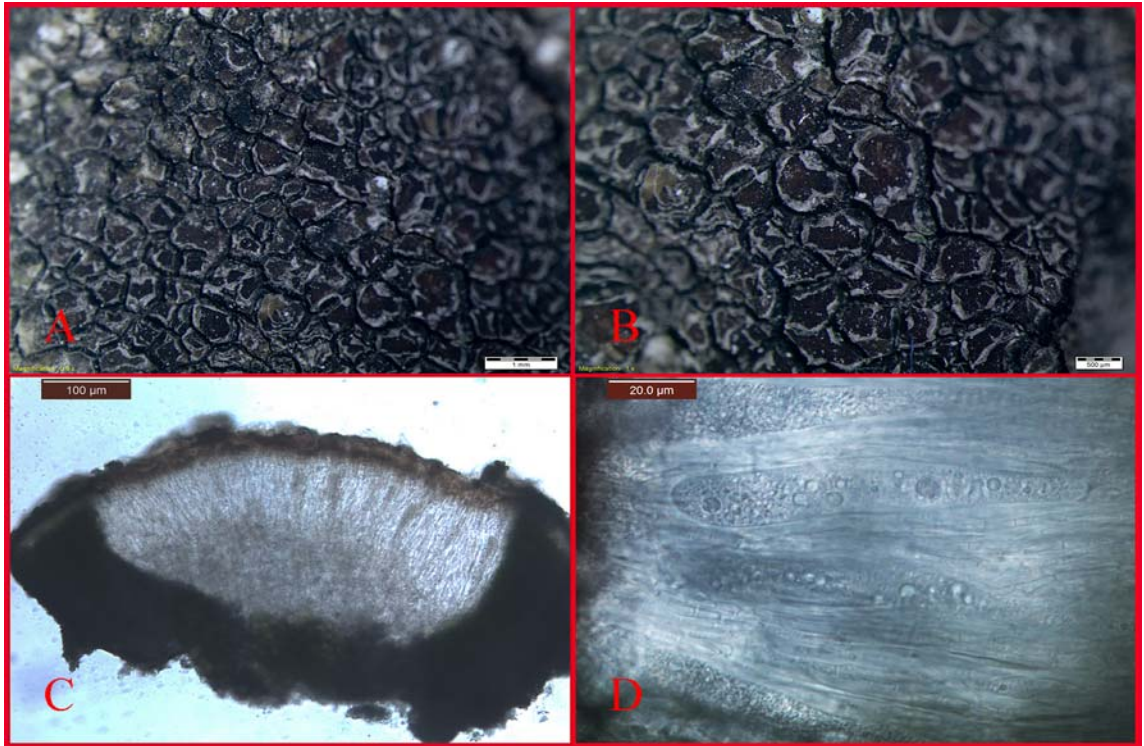
Species: *Lecidea atrobrunnea* (DC.) Schaer.

3.1.3.1. *Lecidea atrobrunnea*

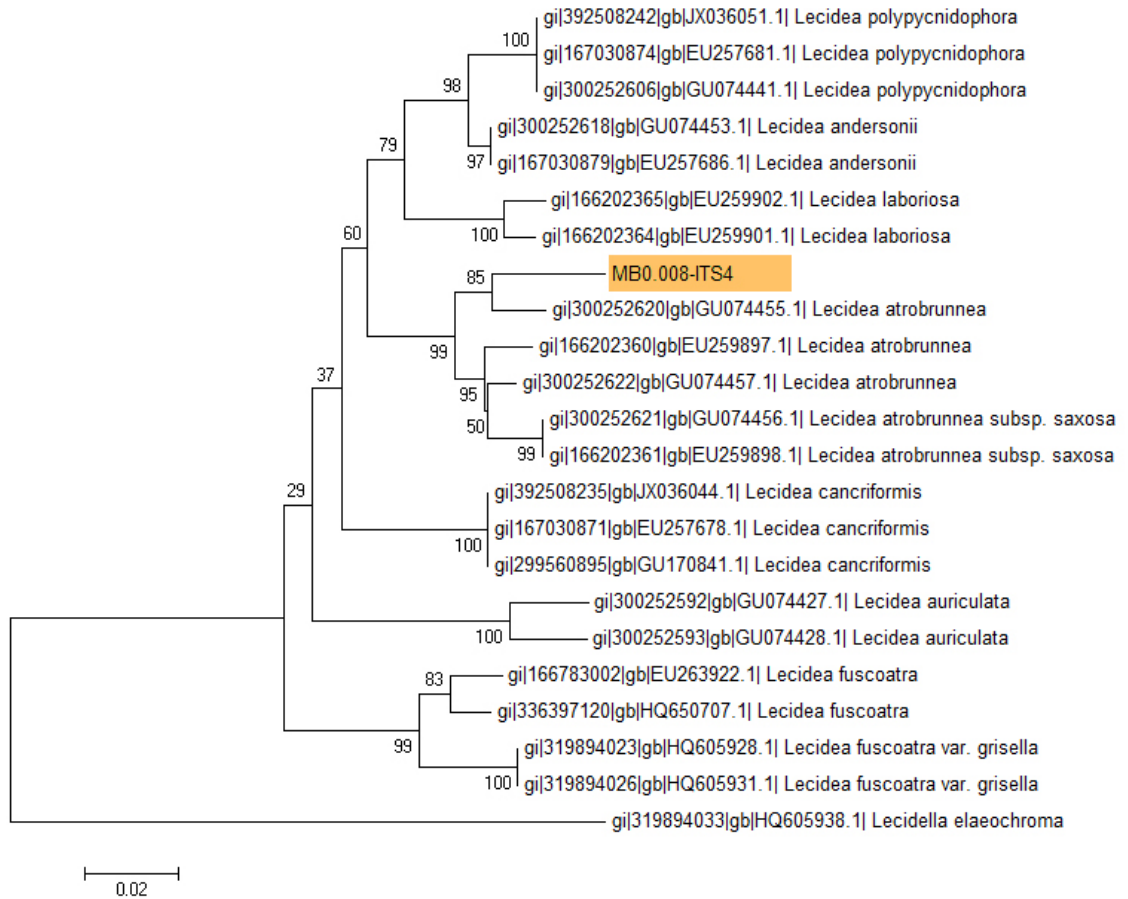
Tallus areolat, 5 cm çapında. Areoller yassı, düzensiz şekilli, koyu kahverengi ve solgun kahverengi renklerde, (0.6–)0.7–0.8–1(–1.1) mm çapında. Üst yüzey kahv rengimsi ve kırmızımsı kahverengi renkte. Apotesyum areol başına 1 tane, (0.2–)0.25–0.3–0.35(–0.4) mm çapında, siyah veya kırmızımsı kahverengi renkte. Epihimenyum kahverengi, 14–18–21 µm kalınlığında. Himenyum 92–115–138(–140) µm uzunluğunda. Askus klavat, (85–)87–100–113 x 14–15–16 (–17) µm boyutlarında. Askusta spor gelişimi gözlenmedi.

Lecidea atrobrunnea genellikle dağların yüksek kesimlerinde ve alpin zonlarda yayılış gösterir.

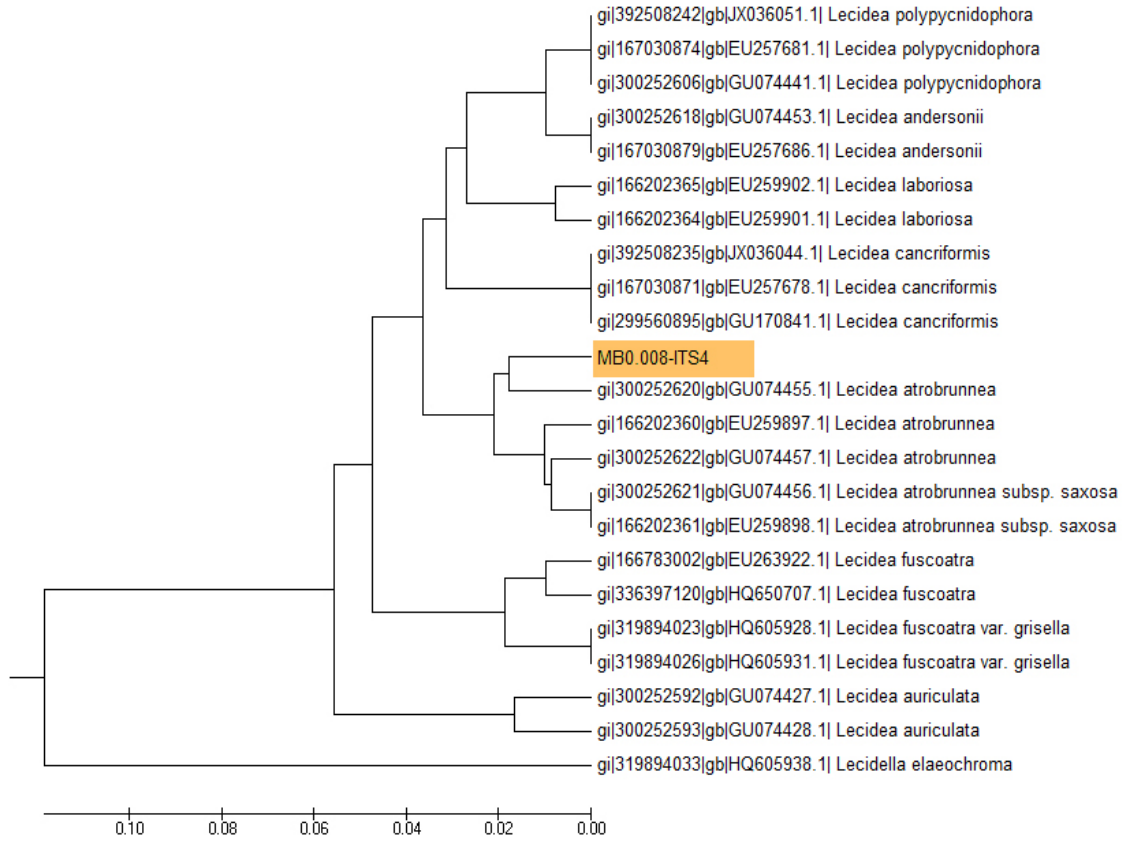
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K– / C– / KC– / Pd–.



Şekil 3.7. *Lecidea atrobrunnea* (MB0.008)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Tallus, B. Areoller, C. Himenyum, D. Askus.



Şekil 3.8. *Lecidea atrobrunnea* (MB0.008)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.9. *Lecidea atrobrunnea* (MB0.008)'nin UPGMA dendrogramı.

Oluşturulan her iki dendrogramda da (NJ ve UPGMA) MB0.008 kod numaralı örneğimiz gen bankasından alınan *Lecidea atrobrunnea* ve *Lecidea atrobrunnea* subsp. *saxosa* Hertel & Leuckert türleri ile eşleşerek ayrı bir dal oluşturmuştur. Bu gruba en yakın olarak dallanan grup ise *Lecidea polypycnidophora* U. Rupr. & Türk, *Lecidea andersonii* Filson, *Lecidea laboriosa* Müll. Arg. ve *Lecidea cancriformis* C.W. Dodge & G.E. Baker türlerinin oluşturduğu gruptur. *Lecidea atrobrunnea* diğer türlerden içerdiği sekonder metabolit bakımından ayrılır. *L. atrobrunnea* 2'-O-methylperlatolic asit içerirken, *Lecidea atrobrunnea* subsp. *saxosa* conorstictic ve norstictic asit, *L. andersonii* planaic asit, *Lecidea polypycnidophora* 4-O-demethylplanaic asit içerir.

3.1.4. *Xanthoparmelia* Cinsi

Kingdom: Fungi
 Division: Ascomycota
 Class: Lecanoromycetes
 Order: Lecanorales
 Family: Parmeliaceae

Genus: *Xanthoparmelia* (Vain.) Hale

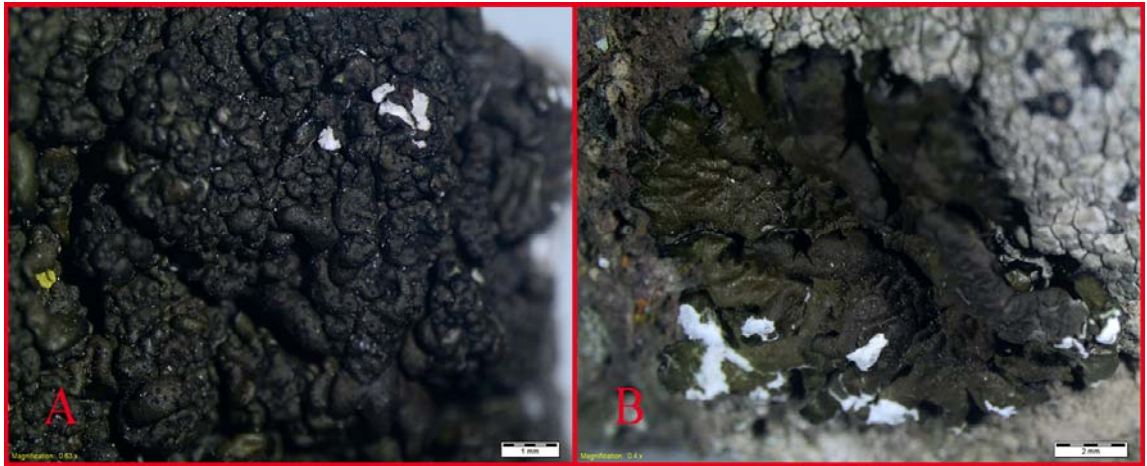
Species: *Xanthoparmelia pulla* (Ach.) O. Blanco, A. Crespo, Elix, D. Hawksw. & Lumbsch

3.1.4.1. *Xanthoparmelia pulla*

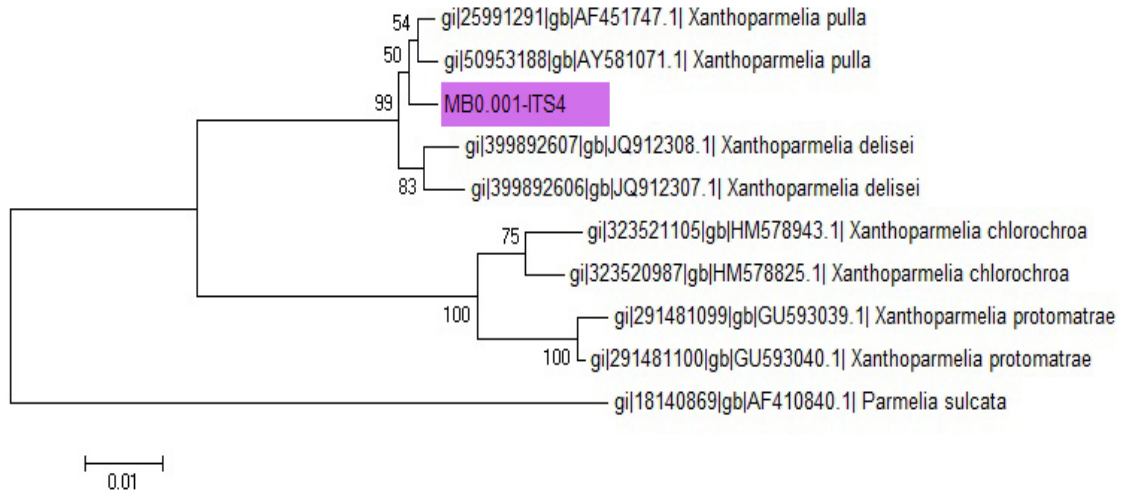
Tallus yapraksı yapıda, 6 cm çapında. Üst yüzey koyu yeşil ve kahverengimsi yeşil renkte. Loplar (6–)6.1–6.3–6.6 x 3.4–3.5–3.6 mm boyutlarında. Apotesyum bulunmuyor.

Afrika, Avustralya, Yeni Zelanda ve Avrupa’da yayılış gösterir. Silisli toprak ve kayalar üzerinde, asidik ve volkanik kayalar üzerinde gelişim gösterir.

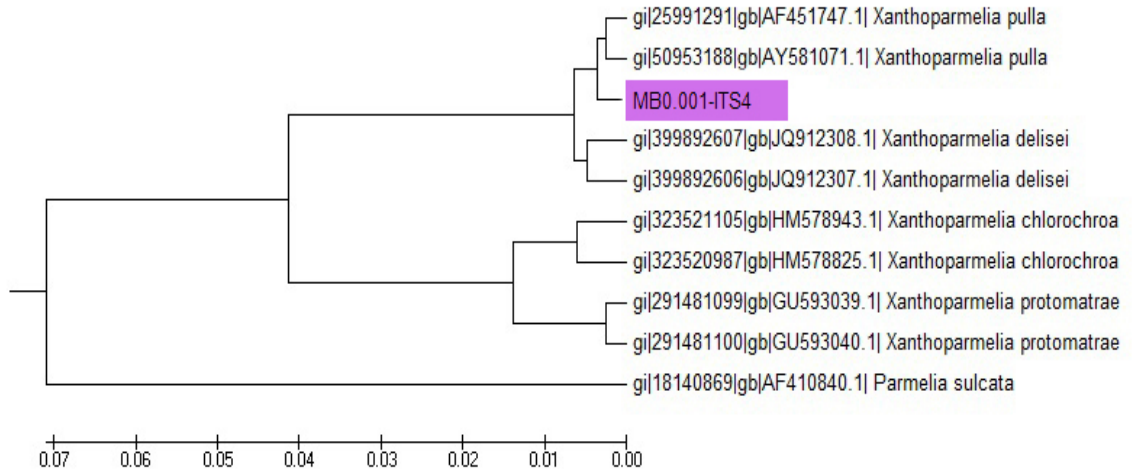
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K– / C– / KC– / Pd–.



Şekil 3.10. *Xanthoparmelia pulla* (MB0.001)'nin morfolojik görüntüsü. A. Tallus, B. Lop.



Şekil 3.11. *Xanthoparmelia pulla* (MB0.001)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.12. *Xanthoparmelia pulla* (MB0.001)'nin UPGMA dendrogramı.

NJ ve UPGMA dendrogramlarının her ikisinde de MB0.001 numaralı örnek *Xanthoparmelia pulla* türleri ile aynı dalda yer almıştır. Bu gruba en yakın dallanmayı *Xanthoparmelia delisei* (Duby) O. Blanco, A. Crespo, Elix, D. Hawksw. & Lumbsch türlerinin oluşturduğu grup göstermiştir. *X. pulla* ile *X. delisei* türleri arasındaki en belirgin fark *X. delisei* türünün medullasının KC ile reaksiyon vererek pembe veya turuncumsu kırmızı bir renk ortaya çıkmasıdır. *X. pulla*' da medulla KC ile negatif sonuç vermektedir. Ayrıca *X. protomatrae* türünde defumarprotocetraric asit bulunurken, *X. pulla*' da stenosporic asit bulunmasıyla da bu iki tür farklılık gösterir.

3.1.5. *Rhizocarpon* Cinsi

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Lecanoromycetes

Order: Lecanorales

Family: Rhizocarpaceae

Genus: *Rhizocarpon* Ramond ex DC.

Species: *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.

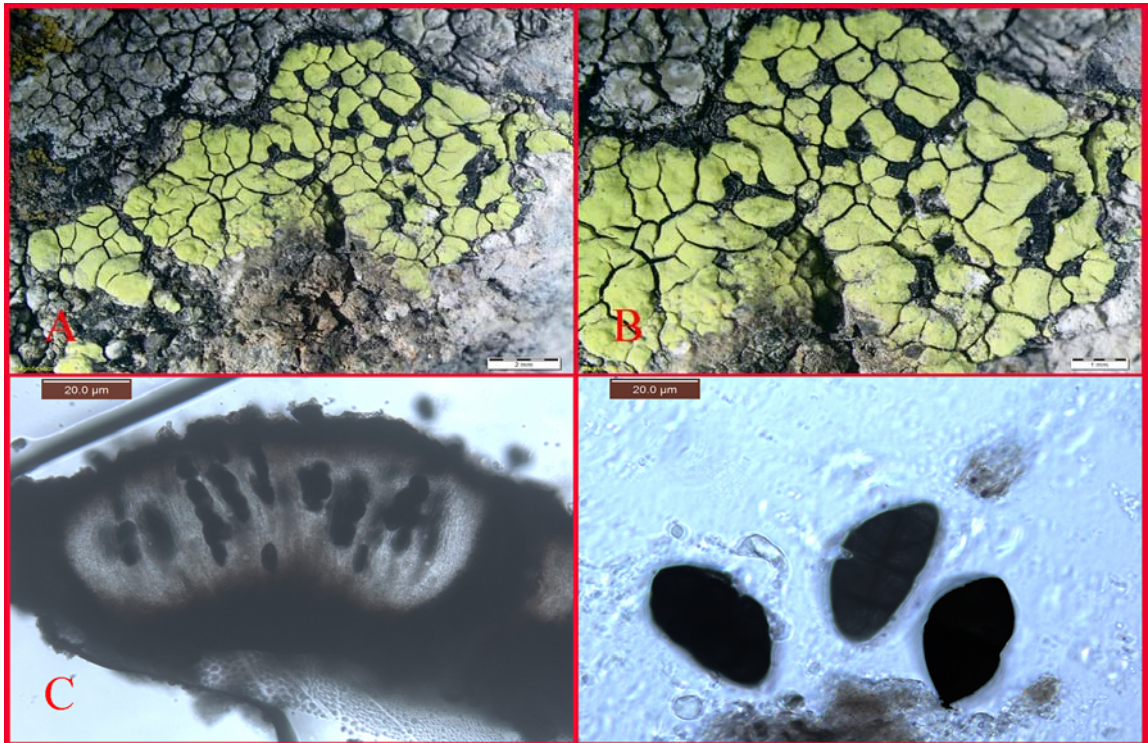
3.1.5.1. *Rhizocarpon geographicum*

Tallus kabuksu, dağınık areollere sahip, 4 cm çapında. Areoller (0.5–)0.8–1.2–1.6(–1.9) mm çapında. Protallus siyah renkte. Üst yüzey yeşilimsi sarı renkte. Apotesyum siyah, 0.3–0.5–0.6(–0.7) mm çapında. Epihimenyum mavimsi siyah renkte. Himenyum hiyalin 29–68–106 µm uzunluğunda. Parafizler 3–3.2–3.4

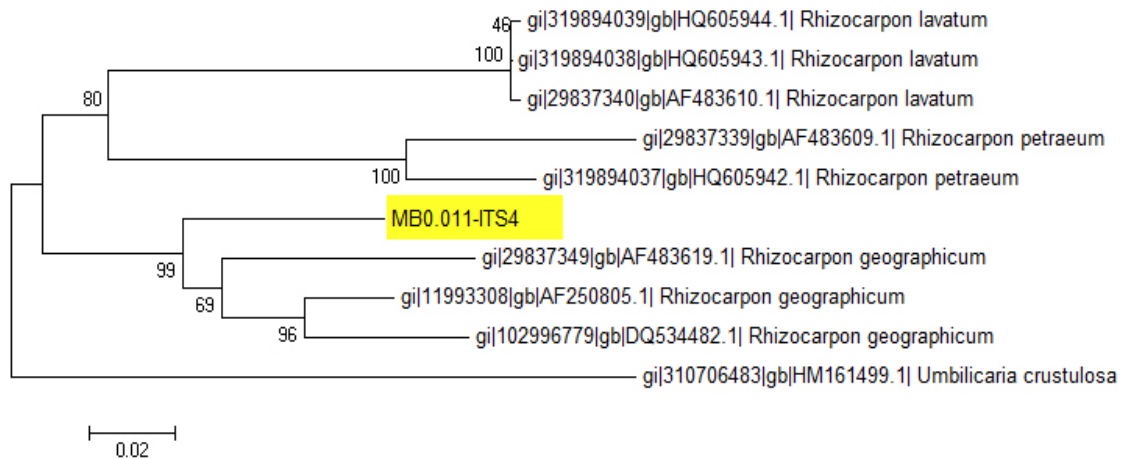
μm uzunluğunda. Askus koyu yeşille kahverengi arasında. 8 sporlu. Askosporlar muriform ve elipsoid, koyu kahverengimsi renkte, (32–)33–37–41(–42) x (18–)19–20–21(–23) μm boyutlarında.

Kozmopolit yayılışa sahiptir. 1000–3720 m. arasındaki yüksekliklerde bulunur. Siliski kayalar üzerinde gelişim gösterir.

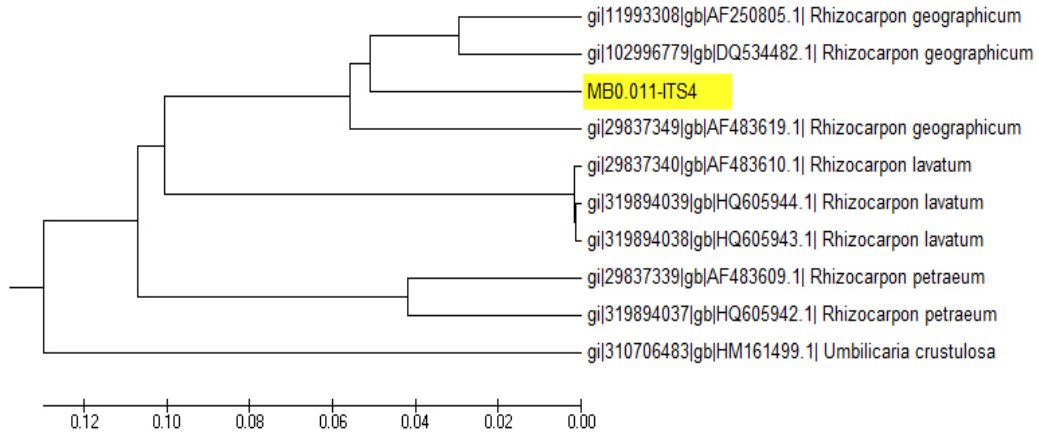
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K– / C– / Pd+ sarı.



Şekil 3.13. *Rhizocarpon geographicum* (MB0.011)'un morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Tallus, B. Apotesyum, C. Himenyum, D. Askospor.



Şekil 3.14. *Rhizocarpon geographicum* (MB0.011)'un Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.15. *Rhizocarpon geographicum* (MB0.011)'un UPGMA dendrogramı.

Oluşturulan NJ ve UPGMA dendogramlarında MB0.011 numaralı örneğimiz *Rhizocarpon geographicum* türü ile birlikte dallanma göstermiştir. Bu gruba en yakın diğer dallanma ise *Rhizocarpon lavatum* (Ach.) Hazsl. türlerinin oluşturduğu gruptur. *Rhizocarpon geographicum* morfolojik olarak belirgin bir şekilde tallusun yüzey rengi ile *R. lavatum*'dan ayrılır. *R. geographicum*' da yüzey yeşilimsi tonlarda renklenme gösterirken, *R. lavatum*' da ise yüzey rengi grimsi ve kahverengimsidir. *Rhizocarpon macrosporum* Rasanen gibi ortalama askospor uzunluğu 34 µm'den daha uzun olan ve psoromik asite sahip olan türler genellikle yeşil himenyuma sahiptir. *R. geographicum* renksiz himenyuma sahip olması ile bu türlerden farklılık gösterir.

3.1.6. *Rhizoplaca* Cinsi

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Lecanoromycetes

Order: Lecanorales

Family: Lecanoraceae

Genus: *Rhizoplaca* Zopf

Species: *Rhizoplaca peltata* (Ramond) Leuckert & Poelt

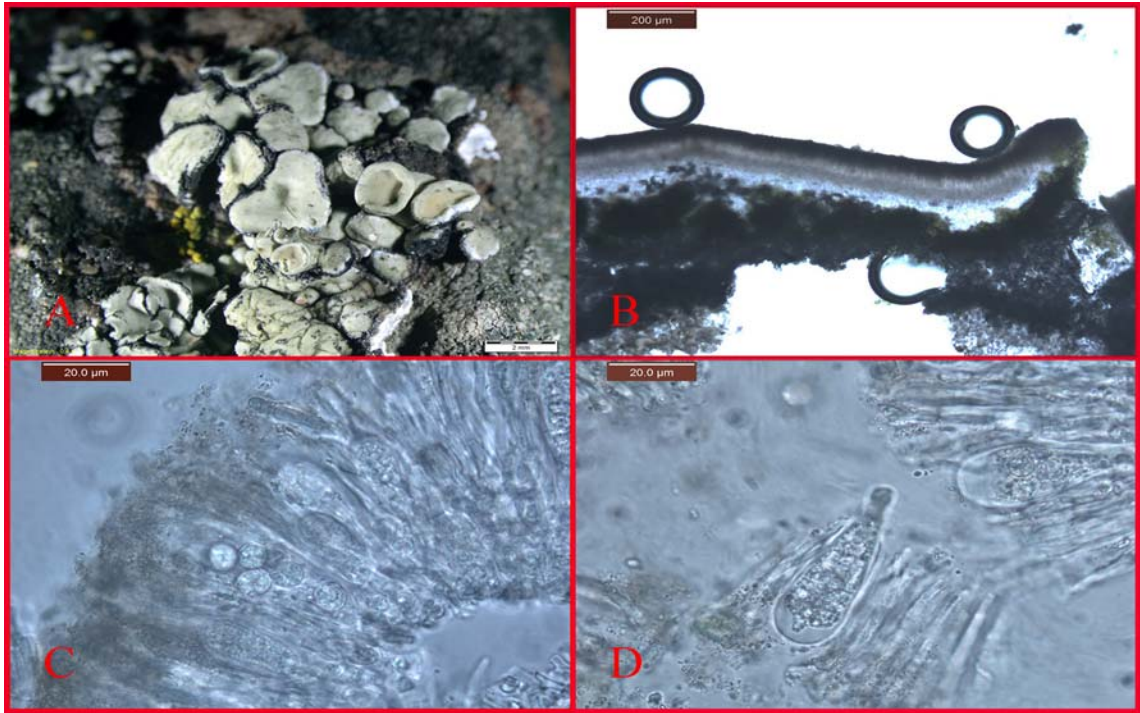
3.1.6.1. *Rhizoplaca peltata*

Tallus genellikle loplu, 3 cm çapında. Loplara aşağı doğru kıvrılmış, kenarları siyahlaşmış, 2.5–2.9–3.3(–3.5) mm uzunluğunda, 1.5–2–2.4 (–2.5) mm genişliğinde. Üst yüzey yeşilimsi sarı renkte. Apotesyum sarımsı, (0.7–)0.8–1.4–2 mm çapında. Himenyum 68–75–82 µm uzunluğunda. Parafiz hiyalin, basit, 2.7–3.2–3.7(–4) µm

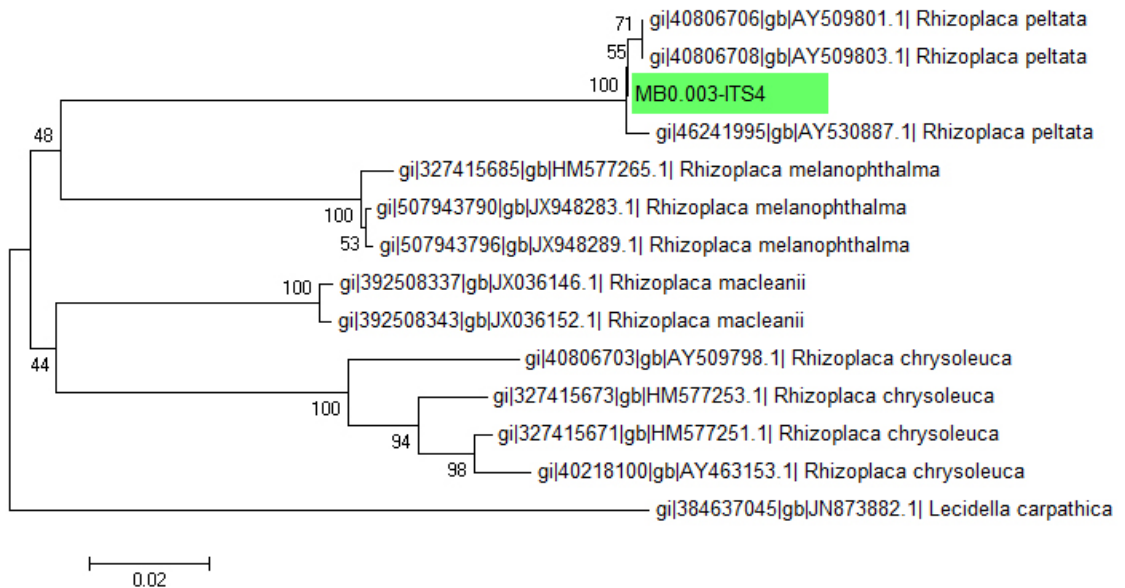
uzunluğunda. Askus klavat, 8 sporlu, (47–)48–50–52 x (15–)16–17–18(–19) μm boyutlarında. Askosporlar globose, (7–)7.4–8.2–9 x (6.5–)7–7.6–8.2(–8.5) μm boyutlarında.

Kurak dağarası bölgelerde yayılış gösterir. Genellikle kayaların dikey yüzlerinde gelişim gösterir.

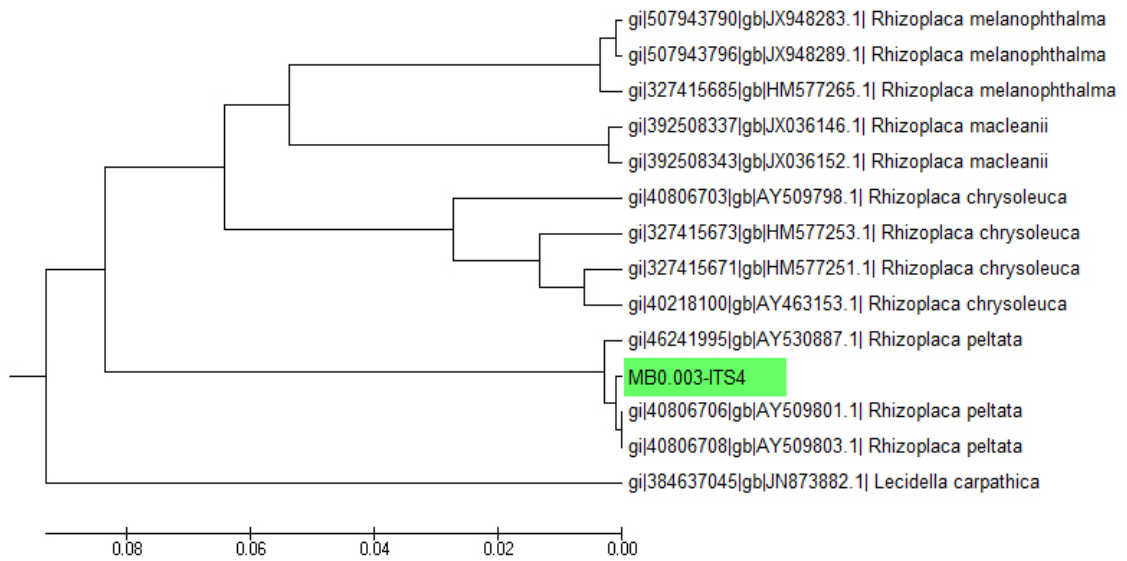
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K– / C– / Pd+ sarı.



Şekil 3.16. *Rhizoplaca peltata* (MB0.003)'nin morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Apotesyum, B. Himenyum, C. Askospor, D. Askus.



Şekil 3.17. *Rhizoplaca peltata* (MB0.003)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.18. *Rhizoplaca peltata* (MB0.003)'nin UPGMA dendrogramı.

Her iki dendrograma bakıldığında MB0.003 numaralı örneğimiz *Rhizoplaca peltata* ile birlikte dallanma göstermiştir. En yakın diğer dallanma ise *Rhizoplaca melanophthalma* (DC.) Leuckert türlerinin oluşturduğu gruptur. İki türü ayıran özellik ise kimyasal içerikleridir. *R. peltata*'nın medullasında pannarin, zeorin ve norstictic asit bulunurken, *R. melanophthalma*'da psoromic asit ve lecanoric asit bulunur. *R. peltata*, *Rhizoplaca chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* ile sıklıkla karıştırılmasına rağmen, terponoidlerin varlığıyla ve apotesyumun krater benzeri bir yapıya sahip olması ile ayırt edilir.

3.1.7. *Tephromela* Cinsi

Kingdom: Fungi
 Division: Ascomycota
 Class: Lecanoromycetes
 Order: Lecanorales
 Family: Mycoblastaceae
 Genus: *Tephromela* M.Choisy
 Species: *Tephromela atra* (Huds.) Hafellner

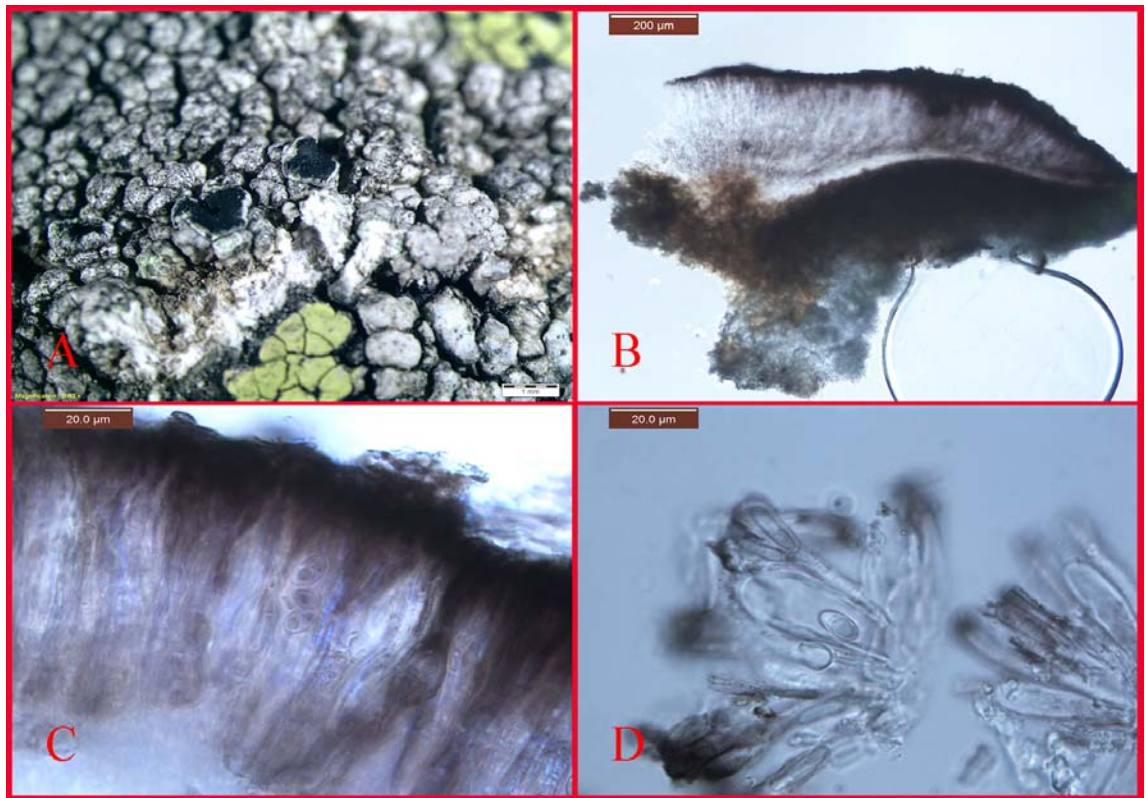
3.1.7.1. *Tephromela atra*

Tallus kabuksu, düzensiz bir şekilde areolat, 5 cm çapında. Üst yüzey grimsi beyaz renkte. Apotesyum siyah renkte, sapsız, 1.1–1.3–1.5 mm çapında. Epihimenyum koyu

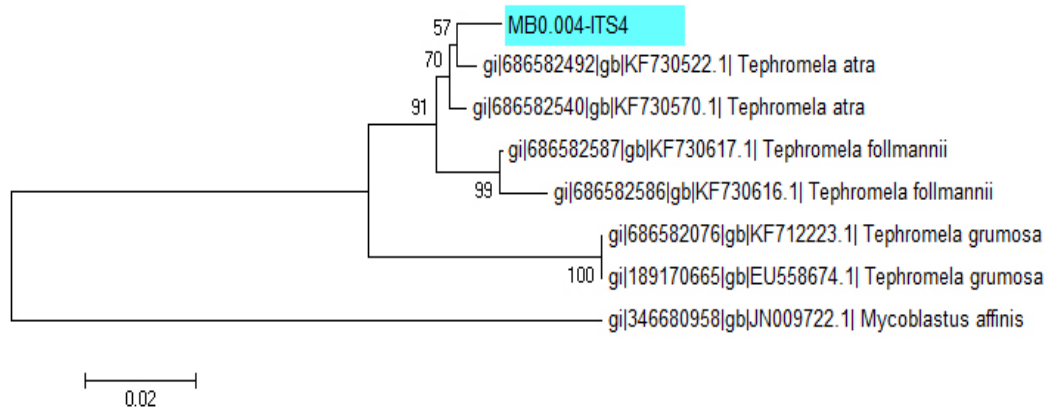
kırmızımsı renkte. Himenyum morumsu veya morumsu kırmızı renkte, 238–245–252 μm uzunluğunda. Hipotesyum 43–56–69 μm kalınlığında. Parafizler dallanmış, (2.8–)2.9–3–3.1 μm uzunluğunda. Askus klavat, 8 sporlu, 38–46–54 x 15 μm boyutlarında. Askosporlar hiyalin, basit, (6–)8–10–12(–13) x (4–)5.5–6.7–8(–10) μm boyutlarında.

Kıyısıl bölgelerden yüksek dağlık alanlara kadar geniş bir yayılışa sahiptir.

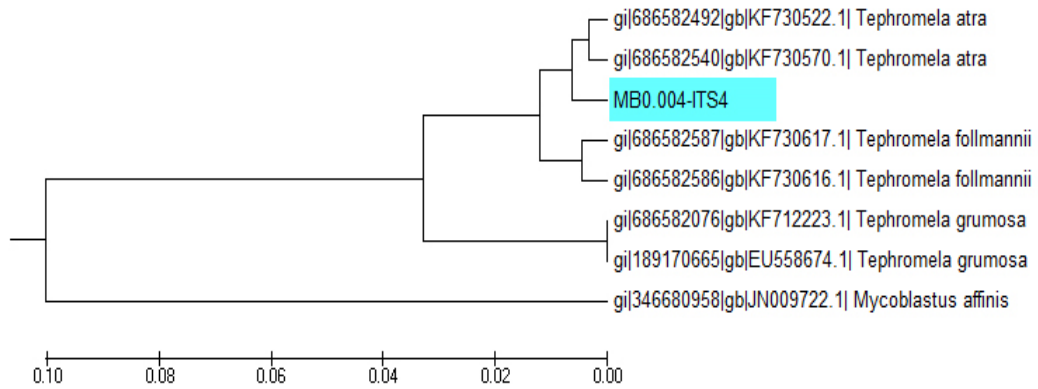
Kimyasal testler; Korteks ve medulla K+ sarı / C – / Pd–.



Şekil 3.19. *Tephromela atra* (MB0.004)'nın morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Apotesyum, B. Himenyum, C. Askospor, D. Parafiz.



Şekil 3.20. *Tephromela atra* (MB0.004)'nın Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.21. *Tephromela atra* (MB0.004)'nın UPGMA dendrogramı.

MB0.004 numaralı örneğe ait NJ ve UPGMA dendrogramları incelendiğinde çalışılan örneğin *Tephromela atra* türü ile bir arada dallandığı görülmektedir. *Tephromela follmannii* Pérez-Vargas, Hern.-Padr. & Elix ve *Tephromela grumosa* (Pers.) Hafellner & Cl. Roux türleri bu gruptan ayrı olarak dallanma göstermişlerdir. *T. atra* ile *T. grumosa* türleri arasındaki en belirgin özellik sored bulundurma durumlarıdır. *T. atra*'da sored bulunmazken, *T. grumosa*'da sored mevcuttur. Ayrıca *T. atra*'da α -collatolic ve alectoronic asit bulunurken, *T. grumosa*'da lichesterinic asit bulunur. *T. follmannii* ise verrucose tallus yapısına sahip olmasıyla *T. atra*'dan belirgin bir şekilde ayrılır. *Tephromela atra* morfolojik olarak *Lecanora gangaleoides* ile oldukça benzerdir ve sıklıkla karıştırılır. Ancak *Tephromela atra* himenyumunun mor renkte olması ile kolaylıkla ayırt edilir.

3.1.8. *Physcia* Cinsi

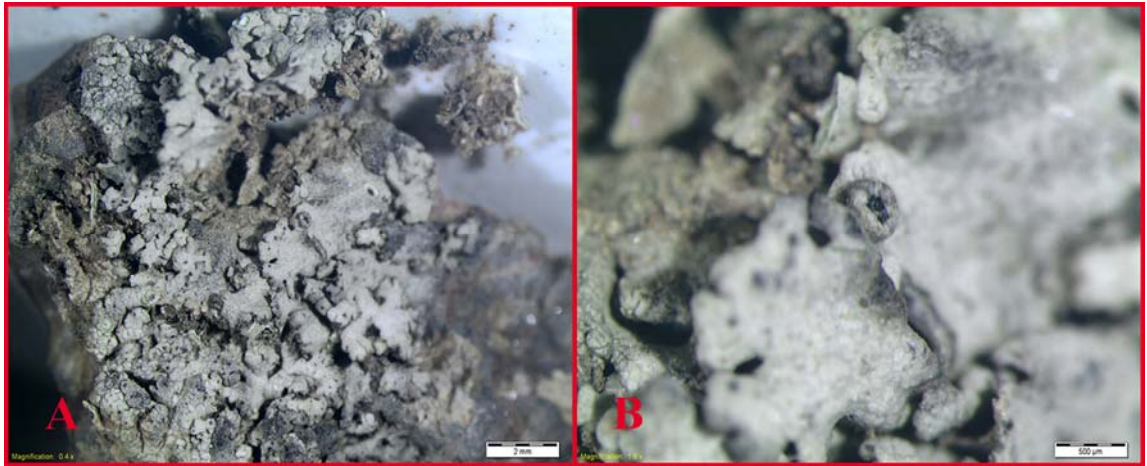
Kingdom:	Fungi
Division:	Ascomycota
Class:	Lecanoromycetes
Order:	Teloschistales
Family:	Physciaceae
Genus:	<i>Physcia</i> (Schreb.) Michaux
Species:	<i>Physcia dubia</i> (Hoffm.) Lettau

3.1.8.1. *Physcia dubia*

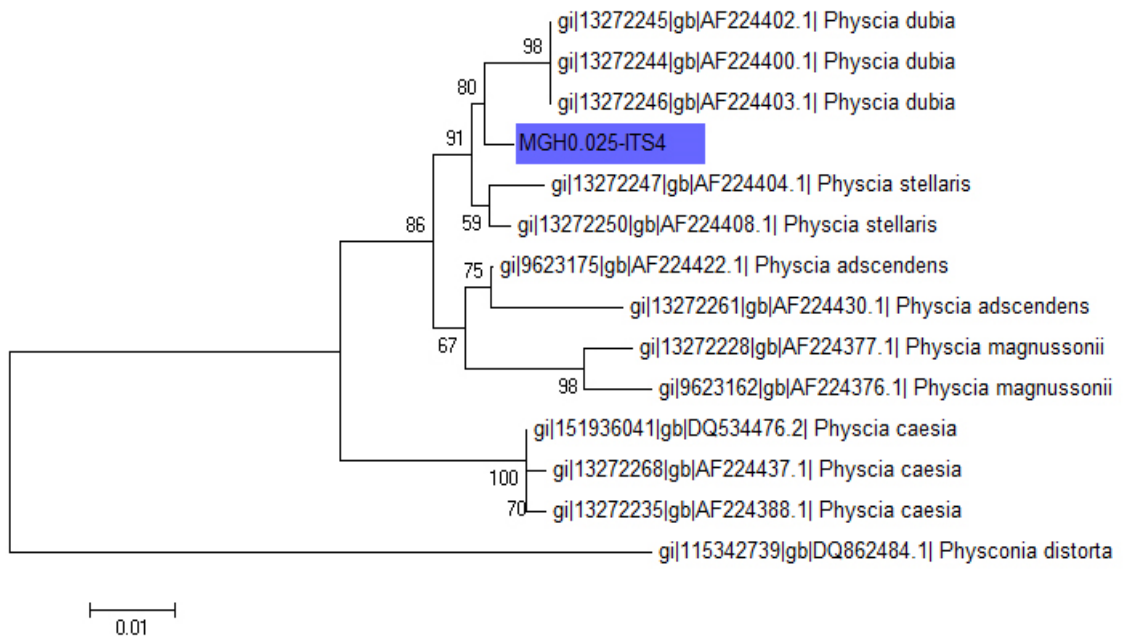
Tallus düzensiz, gri veya kahverengimsi gri renklerde, genellikle lopların uç kısımları belirgin olarak daha koyu, 3–4 cm çapında. Loplar değişken genişliklere sahip, (1.7–)2.2–2.6–3(–3.4) x (1–)1.4–1.8–2.2(–2.3) cm boyutlarında. Üst yüzey beyazımsı gri ve krem renklerinde, purinozluk yok. Apotesyum siyah renkte, 0.1–0.7–1.3(–1.4) mm çapında.

Ilıman bölgelerden kutup altı bölgelere kadar geniş yayılış alanına sahiptir. Asitli kayalar üzerinde gelişim gösterir.

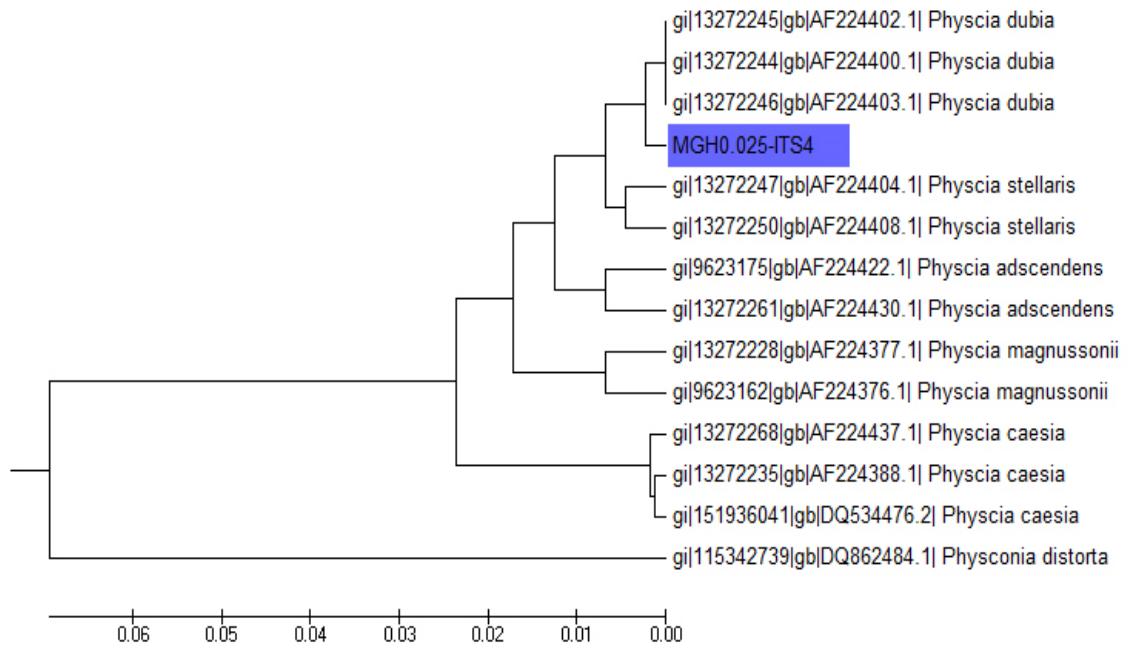
Kimyasal testler: Korteks; K+ sarı / C– / KC– / P+ sarı. Medulla; K– / C– / KC– / P–.



Şekil 3.22. *Physcia dubia* (MGH0.025)'nin morfolojik görüntüsü. A. Tallus, B. Apotesyum.



Şekil 3.23. *Physcia dubia* (MGH0.025)'nin Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



Şekil 3.24. *Physcia dubia* (MGH0.025)'nin UPGMA dendrogramı.

NJ ve UPGMA dendogramları incelendiğinde MGH0.025 numaralı örneğin *Physcia dubia*' lar ile birlikte dallandığı görülmektedir. Her iki dendogramda da *Physcia dubia*' lara en yakın dallanmayı *Physcia stellaris* (L.) Nyl. grubu göstermiştir. *P. dubia* ile *P. stellaris* türleri arasında ki en belirgin fark, *P. dubia* türünde sored mevcutken, *P. stellaris* türünde sored bulunmaz. *P. adscendens* (Fr.) H. Olivier türü ise başlık (kask) şeklinde soralia'ları olması ile farklılık gösterir. *P. magnussonii* Frey türü ise yoğun bir şekilde pruinose olması ve çok sayıda apotesyuma sahip olması ile *P. dubia*' dan ayırt edilir.

3.1.9. *Lecanora* Cinsi

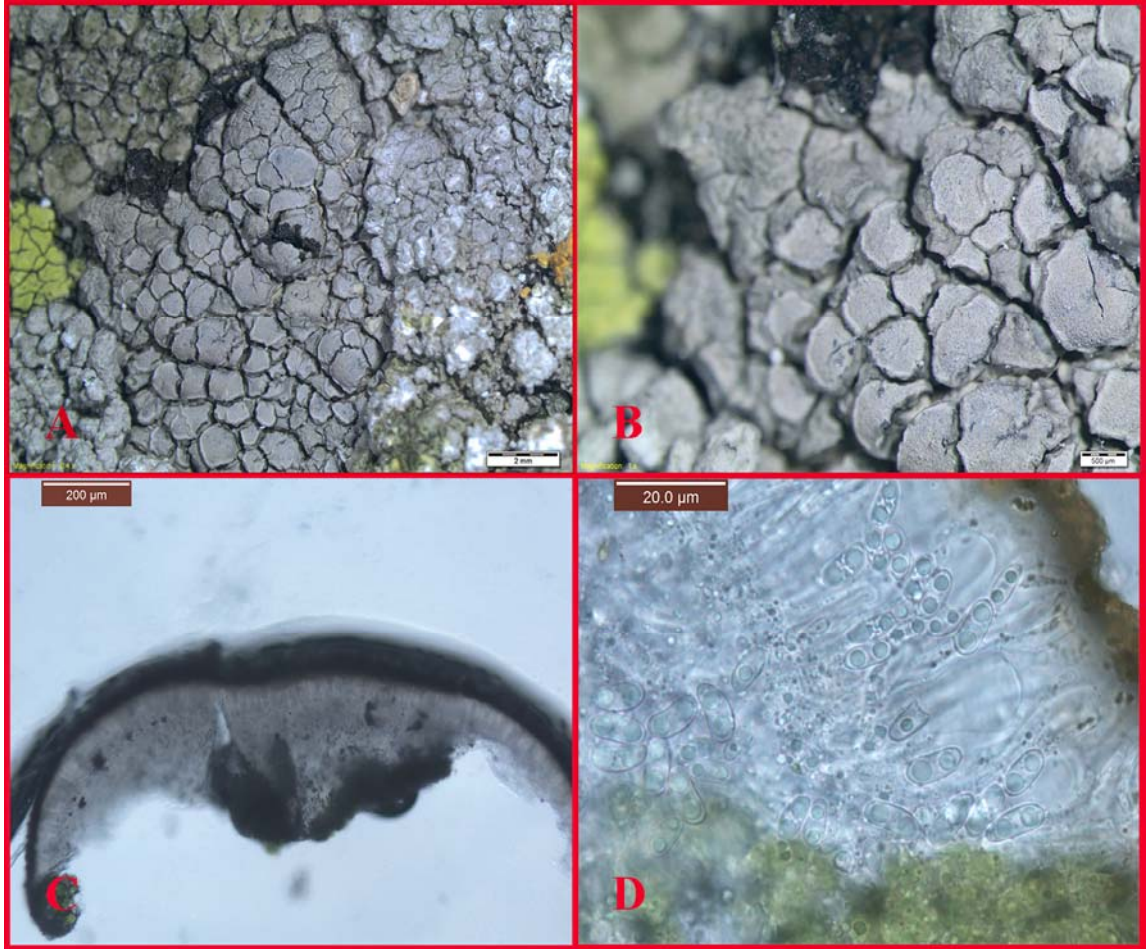
Kingdom: Fungi
 Division: Ascomycota
 Class: Lecanoromycetes
 Order: Lecanorales
 Genus: *Lecanora* Ach.
 Species: *Lecanora rupicola* (L.) Zahlbr.

3.1.9.1. *Lecanora rupicola*

Tallus kabuksu, areollü yapıda, 3 cm çapında. Areoller düz. Yüzey grimsi beyaz veya gri renkte yada solgun yeşil veya yeşilimsi beyaz renklerde, düz, prunisozluk yok, sored mevcut değil. Apotesyum sesil, lecanorin tip, (0.5→)0.7–1–1.3(–1.5) mm çapında. Apotesyum diski düz, gri renkte. Askus klavat, 8 sporlu, (51→)52–56–60(–62) x (14→)16–17.5–19 µm boyutlarında. Askosporlar hiyalin, basit, (14→)14.5–15–15.5(–16) x (7→)7.1–7.5–7.9(–8) µm boyutlarında. Himenyum hiyalin, (67→)67.5–78–89(–92) µm uzunluğunda. Parafizler uç kısımlarda hafifçe kalınlaşmış. Subhimenyum hiyalin. Hipotesyum hiyalin.

Kozmopolit yayılışa sahiptir. Genellikle silisli kayalar üzerinde gelişim gösterir.

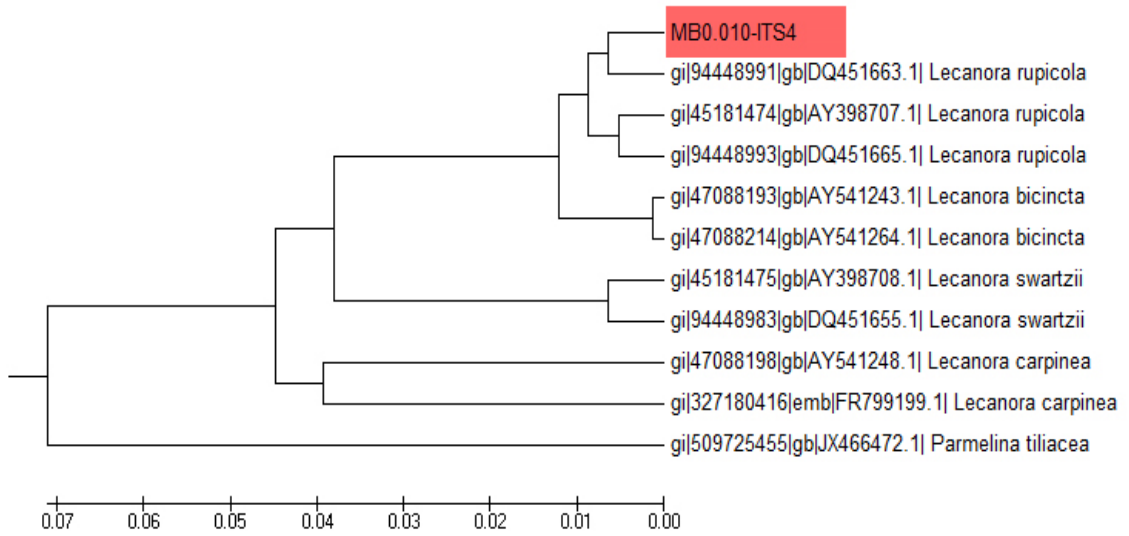
Kimyasal testler: K+ sarı / C– / CK– / P–.



Şekil 3.25. *Lecanora rupicola* (MB0.010)'nın morfolojik ve anatomik görüntüsü. A. Tallus, B. Apotesyum, C. Himenyum, D. Askospor.



Şekil 3.26. *Lecanora rupicola* (MB0.010)'nın Neighbor-Joining (NJ) dendrogramı.



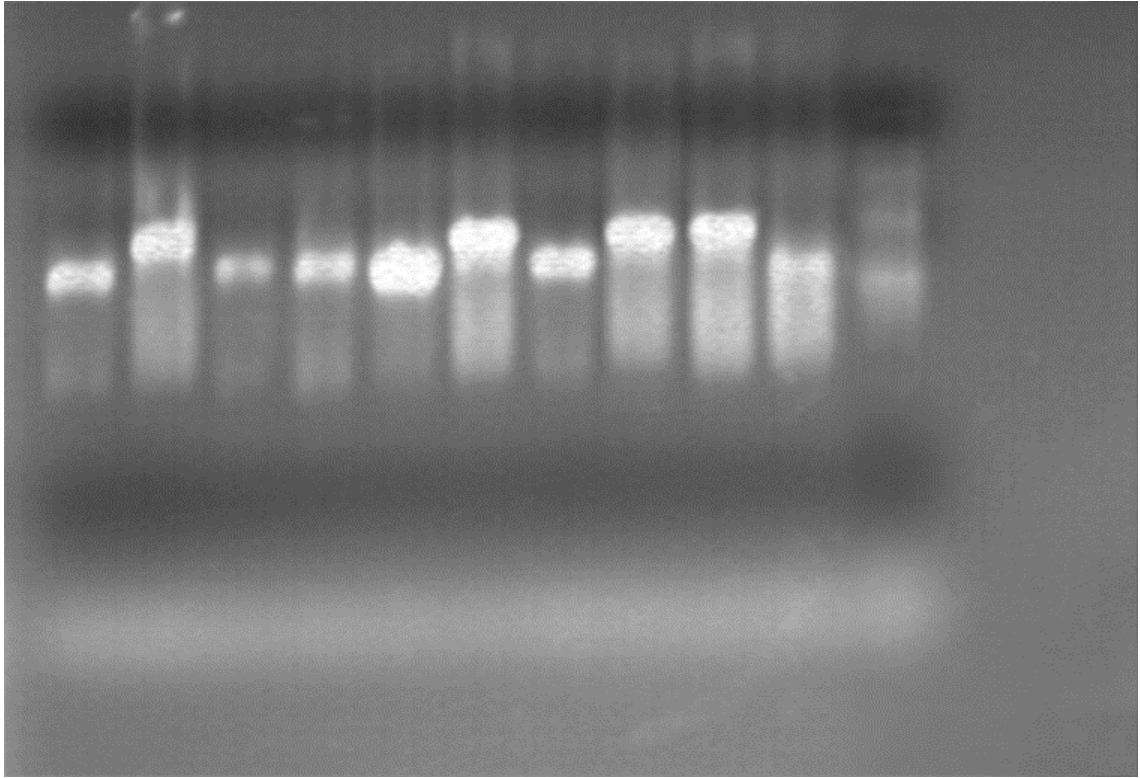
Şekil 3.27. *Lecanora rupicola* (MB0.010)'nın UPGMA dendrogramı.

NJ ve UPGMA dendogramlarının her ikisinde de MB0.010 numaralı örnek *Lecanora rupicola* ile birlikte dallanma göstermiştir. *Lecanora bicincta* Ramond grubu ise kendi arasında dallanma göstermiş ve *L. rupicola* ile en yakın dallanma gösteren grup olmuştur. *L. rupicola* sapsız (sessile) ve hafif gömük apotesyuma ve beyazımsı ya da grimsi pruinose apotesyum diskine sahip iken, *L. bicincta*' da apotesyum hafif saplı bir yapı gösterir ve mavimsi pruinose apotesyum diskine sahiptir. Ayrıca, *L. rupicola*' da apotesyumda gelişmiş bir parathecial yüzük bulunmazken, *L. bicincta* türünde bulunur. Bu özellikler ile iki tür birbirinden ayrılır. *L. swartzii* (Ach.) Ach. türü ise apotesyumun

taban kısmında daralmış bir yapı göstermesi ve korteksin C ile reaksiyonu sonucunda turuncu renk vermesi bakımından morfolojik ve kimyasal olarak *L. rupicola*' dan farklılık gösterir. *L. carpinea* (L.) Vain. türünde de apotesyum saplı olması ile ayırt edilir.

3.2. ITS İçin PCR Analizleri

Erciyes Dağı'ndan toplanan 10 adet liken örneğinin Qiagen Dneasy Plant Kit ve Miniprep yöntemi ile DNA izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen DNA'ların PCR reaksiyonu sonucunda agaroz jel elektroforezinde gözlenebilen ITS bölgelerinin bantları Şekil 3.28' de gösterilmiştir.



Şekil 3.28. Türlerin ITS bölgesinin 55-52 °C değişken bağlanma sıcaklığında PCR sonucunda elde edilen DNA bantlarının elektroforez görüntüsü.

10 adet türün ITS bölgesinin 55-52 °C değişken bağlanma sıcaklığındaki PCR sonucunda yaklaşık olarak 580 bp bantlar elde edilmiştir.

3.3. ITS DNA Dizi Analizi

Erciyes Dağı'ndan farklı türlere ait toplam 10 örnek toplanmıştır. Dış grup olarak her bir cins için yakın ilişkili olduğu başka bir cinsten türler Gen Bankasından alınmıştır.

Xanthoparmelia pulla (MB0.001) için dış grup olarak Af410840 Gen Bankası numarasına sahip olan *Parmelia sulcata* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Aspicilia cinerea türleri (MB0.002 ve MGH0.018) için dış grup olarak JF703124 Gen Bankası numarasına sahip olan *Lobothallia radiosa* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Rhizoplaca peltata (MB0.003) için dış grup olarak JN873882 Gen Bankası numarasına sahip olan *Lecidella carpathica* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Tephromela atra (MB0.004) için dış grup olarak JN009722 Gen Bankası numarasına sahip olan *Mycoblastus affinis* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Lecidea atrobrunnea (MB0.008) için dış grup olarak HQ605938 Gen Bankası numarasına sahip olan *Lecidella elaeochroma* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Lecanora rupicola (MB0.010) için dış grup olarak JX466472 Gen Bankası numarasına sahip olan *Parmelina tiliacea* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Rhizocarpon geographicum (MB0.011) için dış grup olarak HM161499 Gen Bankası numarasına sahip olan *Umbilicaria crustulosa* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Physcia dubia (MGH0.025) için dış grup olarak DQ862484 Gen Bankası numarasına sahip olan *Physconia distorta* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

Circinaria mansourii (MGH0.139) için dış grup olarak JN943617 Gen Bankası numarasına sahip olan *Lecanora muralis* örneği Gen Bankasından alınmıştır.

3.4. Sıralanmış DNA Sekansları

Toplam 10 adet türün dizi analizinin ITS bölgelerinin sıralanmış sekansı Tablo 3.1-Tablo 3.10'da gösterilmiştir. Sekanslar Clustal W programıyla sıralanmıştır.

Tablo 3.1. MB0.001 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

```
ATCATTATTGAGAGAGGGGCTCGTGCTCCCGGGGTTTCGGCCCCCACTCTTCACCC
CTTGCCCTACCTACCTTTGTTGCTTTGGCGGACCCGAGAATCC-TCTCGCGCTGGCT---C
TTAAGCCGGCGCG-----CGTCCGTCAGAGGCC-----ATCTAATTCTATT
TAATCTGTGACGTCCGAGTCT-AAACACAATGAATAAAAACTTTCAACAACGGATCTCT
```

TGGTTCCAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT
 TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATG
 CCTGTTGAGCGTCATTGCACCCTTCAAGCGCAGCTTGGTATTGGGCCTTCGCCCCTGC
 GCGTGCCCGAAAAACAGTGGCGGTCCGGCGTGACTTTAAGCGTAGTAACATCTTTCC-
 GCTTTAAAGCACTCGTTGTGGCCGGCCAGAGAACCTATT

Tablo 3.2. MB0.002 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

AGTAAA-GTCGTAACAAGGTTTCCATCCGCAAGCCTC-GCCTGCTGAAGCCTCCCGCAA
 G-CGACTCTAAACAATTGCG-TAGTCGGTAGCGTTTGTCTCCCGGCCACACCGTCACTG
 CGCTGGAAGCTTCCT----CGGAGGTTACCAGCAACCCGGA-TCTCGAAAGATTCTGGG-
 --CTCACAGATCAAACGCCGGTGGCCGCTCCCC-CGGCG-GTTCAGATATGACCGATA
 CTCTAGAGCCAGGTTGCCCTAGAGAAACC---TG-AGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAA
 GGATCATT-TAGAGAT-AGGG--CCTT---TCG---GGACCCGACCC-----TCCCA
 CCCTTTG-----TGTATTCTACCTTTGTTGCTTTGGCGTGCT-----GTCCG----TGG
 ACAC-CGGGGGGACT-TTACCGTCCGTTTGTGCGTA---CACGGACCCCGCCAGGGGCC
 AT-CTCTTAATTCCAGTCTG-TATCAGT-----G-TCTGAGT-AACAACA-AGCAA-
 TTTA-TCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
 AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
 ATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACACCTCTCAAG
 CTTGGCTTGGTATTGGGCCT-CCGTCTCCGTGGGCGGGCCTGAAAGTCAGTGGCAGTG
 CAGCCGGTGCTCAAGCGTAGTAACTTAAA-CACCCTCGCTTTGGA

Tablo 3.3. MB0.003 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

AACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGAGAGGGGTCTTC-GGAC
 CTCGGGGGCTTCG-GCCCCAGCTCTTACCCTCTGTTTACGTATCATTGTTGCTTTGG
 CGGGCCCCGAGGCTTGCCCCCTCGATTGGC---TGGCGAC-TTCGCCGTCCCGGCCTGTT
 CGCGCCCGTCAGAGGCCTATTC-AA-CCCGACTTACCGCTGCCGTCCGAGT-ACAACCA
 TAAAT-AGTAAAAA-CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGC
 AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
 GCACATTGCGCCCCTCGGTATTCCGGGGGGCATACTGTTGAGCGTCATTACACCCT
 CAAGCTCGGCTTGGTACTGGGTCTTCGCCCCCG-GGGGCGGGCCCGAAAGTCAGTGGTG
 GTTCGGCGCGACTTCGAGCGTAGTAAA-CTTCTCCCGCTCTGGAA-GCTCGCGCCGTG
 ACCGGCCA--GACGCCCAAATCTTCCAATGAT-GACCTCGGATCAGGTAGGAG

Tablo 3.4. MB0.004 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

CAGAGAGGGGGCCCCGGGCTCCCGGGGGCTTCGGCCCCGCCTCTTACACCCTGTGTC
TACATACCTTTGTTGCTTTGGCGGGCCCTGAGGAA--CT--CCTCACGCCGGTCCCTTGG
CCTCGCGGCCCTCGGTTCGGCCCCGTGCCCGTCAGAGGCCATTCAATTCTGTATTATCAGT
GTCGTCCGAGCTAAAAACACAATTA-TAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCA
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTCGGTATTCCGGGGGGTATGCCTGTTTCG
AGCGTCATTAACACCCCTCAAGCGTAGCTTGGTACTGAGCCTTCGCCG-CTC-GGCGGG
CTCGAAAAGCAGTGGCGGTCCGGTGAGACTTCAAGCGTAGTAGATAAACCCACC-GCTT
TGGAAGCCTTCTCGTCGCGACCCGCCAGTCAACCTCA---CACTCTAACGATG

Tablo 3.5. MB0.008 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

CTGCGGAAGGATCATTAAGA-GAGAGGGGCT--CGCGCCCCG-GGGGTTTCG-GCCC-
--CGCCTCTTACCCCCGTGCGTACCTACCTTTGTTGCTTCGGCGGGCCTCGGGTCCCC
CGACGCCGGCCTGGGGGCAACC--CCGGGCTC-GCGCGCGCCCGCCGGAGGCCACTGC-
AAACTCTGTC-ATCCGTGT-AGTCTGAGCATCAAC-ACAATAACTAAAA-CTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGA
ATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGCATTC
GGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTGCAACCCTCAAGCGCTGCTTGGTATTGGGCCT
TCGTCCCCCGGACGTGCCCGAAAGTTAGTGGCGGTCCGGCCGGGACTTCAAGCGTAGTA
GAA-TATCATCCCGCTTTTTGAAGGCCCGTTGCGGCCGACCAGCCAACCCCCAAATA
TTTTCAA-TG

Tablo 3.6. MB0.010 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

TCGAGAGAGGGGCTCGCGCTCCCGGGGGCTCCGGCCCCCAACTCTTCCACCCCGTGTC
CACCTACCTTTGTTGCTTTGGCGGGCCCGGAGCACCCTCCTGCCGGCCGAGGGCCTTC
GCGTCCCGTCCGGCAAGCGCCCGTCGGAGGTCCATCAAACCCGTCTCTTGGTGAAGTC
CGAGTATAAACATAA-TAGTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTCGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTC
ATTACACCC-CTCAAGCGTAGCTTGGTATTGGGCCCTCGCCGACCGTGGCGTACCCGAA
AATCAGTGGCGGTCCGTCTGACTTCAAGCGTAGTAAA-TTT-CTCCCGCTTCGAACGT
TCGCGTCGCGACCGGCCGAAAACCCCGATTTATC-CGAACG

Tablo 3.7. MB0.011 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGAGAT-AGGGGCTCCCGGCCCGAA
 CCTCCCCACCCGTGTCTACCGACCTTTTGTGCTTTGGCGGGCCCG---CGGCCGGG--
 ---CCTATT-CCCGGCCGCCGAGCGCGCCCGCCGAAAGCCACCC---GAACTCGCGT
 --ACCGGT-GATGTCTGAGTAACGA-AACAATAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCT
 TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT
 TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTTGCGCCCTTTGGCACTCCAAAGGGCATG
 CCTGTCCGAGCGTCATTAAACCCC-TCAAGCCCTCCCTGGCTTGGTCTTGGGTCTT-CA
 CCCC-CGG-GTGGGCCTCAAAGTGATTGGCAGCGCA-GTCCGACTTCGAGCGTAGTAGT
 GTTC----CCGCT-TGGAAGCAT-CGGCTTGAGCCGGGGCAGACAGCC-ACC

Tablo 3.8. MGH0.018 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

AGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCATCCGCGAGTCTC-GCCCGCTGAAGCCTCCCGCAA
 GGCGACTCTAAACAATTGCG-TAGTCGGTAGCGTTTGTCTCCCGGCCACACCGTCACTG
 CGCTGGAAGCCTCAT----CGGAGGTTACCAGCAACCCGGA-TCTCGAAAGGTCCGGG-
 --CTCACAGATCAAACGACGGTGGCCGTCTCCCC-CGGCG-GTTCAGATATGACCGATA
 CTCTAGAGCCAGGTTGCTCTAGAGAAACCTCTTT-AGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAA
 GGATCATTA-TAGAGAT-AGGG--CCTT---TCG---GGGTCCGACCC-----TCCCA
 CCCTTTG-----TGATTTCTACCTTTGTTGCTTTGGCGTCTT-----GTCCG----CGG
 ACAC-CGGGGGGACT-TTACCGTCCGCTTATCGCCA---CACGGACCCCGCCAGGGGCC
 AT-TTCCTAATTCGGTCTG-TATCAGT-----G-TCTGAGTGAAAAACA-AGCAAAA
 TTAA-TCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
 AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
 ATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTGCACCTCTCAAG
 CTTGGCTTGGTATTGGGCCT-CTGTCCCCCGCGGGCGGGCCTGAAAATCAGTGGCAGTG
 TAGCCGGTGCTCAAGCGTAGTAACTTAAAA-CACCCTCGCTTTGGA

Tablo 3.9. MGH0.025 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

AACAAGGTTTCCGTAGGTACAAATCGGTTTGCCTGCCGAAACCCCCCGCAAC---GACG
 TTAAAAAAGTCTGCGCCCTTGTGGCGCGGGCAACACCGTTCAAGTGCTGAG
 AATGCC---GGCAACAGCCCCGCACAACC---AGCAGCCAGCGTGTCACTGC-TGGTCC
 ACAGATCAATCGACGGTGACCTTCATCGG---TTAAGCTATGACCGGTCCAGAGCCCC
 AA-----CGGGCCCTGGAGCGACGGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGAGACGGGG

TCTAACCGGCCCAACTCTTCATCCGTGTCTACATACCA-ATGTTGCTTTGGCGAGCC-
 -TCGGGCTTGTTCCGGGGAGTTCACGCTCCTTC- ---GCCC-CAAAGGCCCATACAA
 AACCTGTTATCAGTGTCTCGTCCGAGCACACATATAATAATTAACCTTTCAACAACGGAT
 CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
 GAATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCGAAGGG
 CATGCCTGTTTCGAGCGTCATTGCAACCCTCAAGCACGGCTTGGTATTGGGTCTCGTCCC
 CGCGACGTGCCCGCAATTTTCGTGGCGGTCCAGTGAGACTTGAAGCGTAGCAAGATTTTT
 ACATCCCGCTTTGCAAGCCT-CTCGCTGCGTGCCGGCCAAACAA

Tablo 3.10. MGH0.139 numaralı örneğin ITS bölgesinin sıralanmış DNA sekansı.

-----GCCTGCTGAAGCCTGAACCGC
 AGCGACTCAAATAAACTGCGATTAGTTGGTAAGCTCTGTTTACCGGCCACACTGTCACT
 GCGCGGAAACCTCTTAAGATGGGGGTCACCCAGCAACCCTCGGTCTTTTGGATCCCGG
 GG--CTCACAGATCAAACGACGGTG-CCGCCTCC---GGGCG-GTTCAGATATGACCGA
 AACTCTAGAG----GTTGCCCTAGAGAACTTTT-----GTTCCGTAGGTGAACCTGCG
 GAAGGATCATTACCGAGAT-AGGGTCCTTT---TG---AGGACTCGACCC-----TC
 CCACCCTTTG-----TGTATATTACTTCTGTTGCTTTGGCG-GTA-----TCCCG-----
 CGG-TACACGGCGC-----TGCTT-ACTC-CGTCGCGT--TCCCGG-CCCGCCAGAGG
 CCCT-ATTC-TATTCTGTTAA---ATTAGT---AATG-TCTGAGC-ATGC-----AAAA
 AATAA--TCAA-CTCACATCAACG-ATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
 CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
 ACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACACCTCTCA
 AGCTCAGCTTGGTATTGGGTCT-ATCGTCCCCTGTGGACGGGCCTGAAAATCAGTGGCG
 GTGCAGTCGGTACTCAAGCGTAATAAC--ATAA-TATCC-CGCTTTGGA

Tablo 3.11. Kullanılan türler, orijinleri ve Gen Bankası numaraları.

Orijin	Tür	Gen Bankası Numarası
Türkiye	* <i>Xanthoparmelia pulla</i>	
Avusturya	<i>Xanthoparmelia pulla</i>	AF451747

İspanya	<i>Xanthoparmelia pulla</i>	AY581071
Türkiye	<i>Xanthoparmelia delisei</i>	JQ912307
Türkiye	<i>Xanthoparmelia delisei</i>	JQ912308
ABD	<i>Xanthoparmelia chlorochroa</i>	HM578943
ABD	<i>Xanthoparmelia chlorochroa</i>	HM578825
Kore	<i>Xanthoparmelia protomatrae</i>	GU593039
Kore	<i>Xanthoparmelia protomatrae</i>	GU593040
Türkiye	* <i>Rhizoplaca peltata</i>	
Çin	<i>Rhizoplaca peltata</i>	AY530887
Çin	<i>Rhizoplaca peltata</i>	AY509801
Çin	<i>Rhizoplaca peltata</i>	AY509803
İran	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>	JX948283
Şili	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>	JX948289
ABD	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>	HM577265
Antartika	<i>Rhizoplaca macleanii</i>	JX036146

Antartika	<i>Rhizoplaca macleanii</i>	JX036152
Çin	<i>Rhizoplaca chrysoleuca</i>	AY463153
Çin	<i>Rhizoplaca chrysoleuca</i>	AY509798
ABD	<i>Rhizoplaca chrysoleuca</i>	HM577251
ABD	<i>Rhizoplaca chrysoleuca</i>	HM577253
Türkiye	* <i>Tephromela atra</i>	
ABD	<i>Tephromela atra</i>	KF730522
Karadağ	<i>Tephromela atra</i>	KF730570
İspanya	<i>Tephromela follmannii</i>	KF730616
İspanya	<i>Tephromela follmannii</i>	KF730617
İskoçya	<i>Tephromela grumosa</i>	KF712223
İtalya	<i>Tephromela grumosa</i>	EU558674
Türkiye	* <i>Lecidea atrobrunnea</i>	
Antartika	<i>Lecidea atrobrunnea</i>	GU074455
Antartika	<i>Lecidea atrobrunnea</i>	GU074457

Danimarka	<i>Lecidea atrobrunnea</i>	EU259897
ABD	<i>Lecidea atrobrunnea</i> subsp. <i>saxosa</i>	GU074456
ABD	<i>Lecidea atrobrunnea</i> subsp. <i>saxosa</i>	EU259898
Antartika	<i>Lecidea andersonii</i>	GU074453
Antartika	<i>Lecidea andersonii</i>	EU257686
İsveç	<i>Lecidea auriculata</i>	GU074427
Norveç	<i>Lecidea auriculata</i>	GU074428
Antartika	<i>Lecidea cancrifomis</i>	JX036044
Antartika	<i>Lecidea cancrifomis</i>	EU257678
Antartika	<i>Lecidea cancrifomis</i>	GU170841
Avusturya	<i>Lecidea fuscoatra</i>	EU263922
ABD	<i>Lecidea fuscoatra</i>	HQ650707
Türkiye	<i>Lecidea fuscoatra</i> var. <i>grisella</i>	HQ605928
Türkiye	<i>Lecidea fuscoatra</i> var. <i>grisella</i>	HQ605931
Antartika	<i>Lecidea polypycnidophora</i>	JX036051

Antartika	<i>Lecidea polypycnidophora</i>	EU257681
Antartika	<i>Lecidea polypycnidophora</i>	GU074441
Türkiye	* <i>Lecanora rupicola</i>	
Polonya	<i>Lecanora rupicola</i>	DQ451663
Avusturya	<i>Lecanora rupicola</i>	AY398707
Kamerun	<i>Lecanora rupicola</i>	DQ452665
Avusturya	<i>Lecanora bicincta</i>	AY541243
Avusturya	<i>Lecanora bicincta</i>	AY541264
Avusturya	<i>Lecanora swartzii</i>	DQ451655
Avusturya	<i>Lecanora swartzii</i>	AY398708
İngiltere	<i>Lecanora carpinea</i>	FR799199
Avusturya	<i>Lecanora carpinea</i>	AY541248
Türkiye	* <i>Rhizocarpon geographicum</i>	
Avusturya	<i>Rhizocarpon geographicum</i>	AF250805
Antartika	<i>Rhizocarpon geographicum</i>	DQ534482

Norveç	<i>Rhizocarpon geographicum</i>	AF483619
Norveç	<i>Rhizocarpon lavatum</i>	AF483610
Türkiye	<i>Rhizocarpon lavatum</i>	HQ605944
Türkiye	<i>Rhizocarpon lavatum</i>	HQ605943
Norveç	<i>Rhizocarpon petraeum</i>	AF483609
Türkiye	<i>Rhizocarpon petraeum</i>	HQ605942
Türkiye	* <i>Physcia dubia</i>	
İsveç	<i>Physcia dubia</i>	AF224400
İsveç	<i>Physcia dubia</i>	AF224402
İsveç	<i>Physcia dubia</i>	AF224403
İsveç	<i>Physcia stellaris</i>	AF224404
İsveç	<i>Physcia stellaris</i>	AF224408
İsveç	<i>Physcia adscendens</i>	AF224422
İsveç	<i>Physcia adscendens</i>	AF224430
İsveç	<i>Physcia magnussonii</i>	AF224376

İsveç	<i>Physcia magnussonii</i>	AF224377
İsveç	<i>Physcia caesia</i>	AF224437
İsveç	<i>Physcia caesia</i>	AF224388
Antartika	<i>Physcia caesia</i>	DQ534476
Türkiye	* <i>Circinaria mansourii</i>	
İran	<i>Circinaria mansourii</i>	JX306735
İran	<i>Circinaria mansourii</i>	JX306736
ABD	<i>Circinaria contorta</i>	KC990383
ABD	<i>Circinaria contorta</i>	HQ650638
Çin	<i>Circinaria lacunosa</i>	JQ797517
Kazakistan	<i>Circinaria lacunosa</i>	JQ797520
Kırgızistan	<i>Circinaria cerebroides</i>	JQ797534
Kırgızistan	<i>Circinaria cerebroides</i>	JQ797553
Kazakistan	<i>Circinaria emiliae</i>	JQ797512
Kazakistan	<i>Circinaria emiliae</i>	JQ797513

Rusya	<i>Circinaria esculenta</i>	JQ797510
Rusya	<i>Circinaria esculenta</i>	JQ797511
İran	<i>Circinaria cf. elmorei</i>	JQ797542
Ukrayna	<i>Circinaria cf. elmorei</i>	JQ797551
Kırgızistan	<i>Circinaria alpicola</i>	JQ797552
Kırgızistan	<i>Circinaria alpicola</i>	JQ797556
Cezayir	<i>Circinaria jussuffii</i>	JQ797518
Fas	<i>Circinaria jussuffii</i>	JQ797521
İran	<i>Circinaria gyrosa</i>	JQ797528
İran	<i>Circinaria gyrosa</i>	JQ797539
Türkiye	* <i>Aspicilia cinerea</i>	
Türkiye	* <i>Aspicilia cinerea</i>	
Fransa	<i>Aspicilia cinerea</i>	AJ458278
İsveç	<i>Aspicilia caesiocinerea</i>	EU057897
İngiltere	<i>Aspicilia caesiocinerea</i>	FJ532372

İran	<i>Aspicilia hispida</i>	HQ171233
Rusya	<i>Aspicilia hispida</i>	HQ171235
ABD	<i>Aspicilia fruticulosa</i>	HQ171231
ABD	<i>Aspicilia fruticulosa</i>	HQ171232
Çin	<i>Aspicilia vagans</i>	HQ389194
Rusya	<i>Aspicilia vagans</i>	HQ389196
Rusya	<i>Aspicilia contorta</i>	AF332108
Rusya	<i>Aspicilia contorta</i>	AF332109
İsveç	<i>Aspicilia epiglypta</i>	EU057907
İsveç	<i>Aspicilia epiglypta</i>	HQ259262
İsveç	<i>Lobothallia radiosa</i> (Dış grup)	JF703124
İsveç	<i>Parmelia sulcata</i> (Dış grup)	AF410840
Avusturya	<i>Lecidella carpathica</i> (Dış grup)	JN873882
Kanada	<i>Mycoblastus affinis</i> (Dış grup)	JN009722
Türkiye	<i>Lecidella elaeochroma</i> (Dış grup)	HQ605938

İsveç	<i>Parmelina tiliacea</i> (Dış grup)	JX466472
Peru	<i>Umbilicaria crustulosa</i> (Dış grup)	HM161499
Fas	<i>Physconia distorta</i> (Dış grup)	DQ862484
Almanya	<i>Lecanora muralis</i> (Dış grup)	JN943617

Yanına * işareti konulan Türkiye orijinli türlerin Gen Bankası numaraları yapacağımız makale sırasında verilecek olup şuan için Gen Bankası numarası yeri boş bırakılmıştır.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Likenler ile yapılan DNA dizi analizi çalışmaları özellikle son yıllar içerisinde oldukça önemli bilgilerin elde edilmesini sağlamıştır. Özellikle ITS 1 ve ITS 2 olarak adlandırılan, ITS bölgeleri, kodlanmayan iki ara (spacer) bölge olmaları bakımından bu çalışmalar için çok uygun olmuşlardır. Bu ara bölgeler rDNA'nın kodlanan bölgelerine kıyasla selektif avantaj sundukları için daha fazla mutasyon biriktirebilmekte ve türler arası, tür içi ve hatta popülasyon düzeyinde var olan polimorfizmlerin ortaya çıkmasında etkili olabilmektedirler [26].

Klasik sistematik yöntemlerin morfolojik ve anatomik karakterler üzerine dayandığı günümüzde, moleküler çalışmaların önemi daha belirgin olarak göze çarpmaktadır. Daha önceki liken çalışmalarında, ana karakterler olarak daha çok morfolojik ve kimyasal karakterler seçilmekteydi. Fakat morfolojik ve kimyasal karakterler likenlerin sistematik kategorilerini kesin olarak belirlemek için yetersiz kalmaktadır. Örneğin aynı liken türü farklı habitat koşullarında, farklı iklim ve sıcaklık koşullarında yaşayabilmektedir. Bunun için bir takım adaptasyonlar geliştirirler. Bu adaptasyonların içerisinde morfolojilerinde ve kimyasal yapılarında meydana gelen değişikliklerde mevcut olabilir. Morfolojik yapılarında bazı değişiklikler meydana gelirken, genetik yapılarında çok fazla değişiklikler meydana gelmemektedir. Çünkü genetik yapı kolay kolay değişmez. DNA'ya bağlı olarak elde edilen veriler her zaman daha stabildir ve en doğru sonuçları verir. Bu nedenden dolayı morfolojik ve anatomik karakterlerin daima moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerekir.

rRNA dizileri tüm canlı hücrelerde bulunduğu ve aynı görevi üstlendiğinden taksonomik ve filogenetik çalışmalar için sıklıkla tercih edilmektedir. Bu dizilerin evriminin tüm genomun evrimini yansıttığı söylenebildiği gibi aynı zamanda farklılık gösteren ve korunmuş bölgeler de içermektedirler. Bu sayede farklı taksonomik

gruplarda bulunan organizmaların karşılaştırma ve ayırımlarında kullanılmaktadır. Bilindiği gibi genotipleme konusunda PCR teknolojisine dayanan metotlar, sağladığı avantajlar göz önünde bulundurularak, dünyada sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada da günümüz biyoteknolojisinde kullanılan, son derece önemli bir yöntem olan DNA dizi analizi yöntemi kullanılmıştır.

Bu çalışmada Erciyes Dağı'nda yayılış gösteren bazı likenleşmiş mantar türleri incelenmiştir. Anatomik ve morfolojik incelemelerin yanı sıra moleküler yöntemlerden de faydalanılmıştır. Bu moleküler çalışmalar, ITS bölgelerinin PCR yardımıyla çoğaltılarak ilgili gen bölgesinin dizi analizi yöntemi ile incelenmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir.

Aspicilia cinerea türlerinde, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 800 bp olarak gözlemlenmiştir. Aynı zamanda *Aspicilia cinerea* türlerinin, ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 766 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 404 nükleotidin sabit (C), 344 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 194 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Circinaria mansourii türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 750 bp olarak gözlemlenmiştir. Aynı zamanda *Aspicilia* türlerinin, ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 529 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 299 nükleotidin sabit (C), 218 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 141 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Lecanora rupicola türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 560 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 513 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 380 nükleotidin sabit (C), 130 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 58 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Lecidea atrobrunnea türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 600 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 541 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 352 nükleotidin sabit (C), 182 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 117 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Physcia dubia türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 790 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 753 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 542 nükleotidin sabit (C), 201 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 142 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Rhizocarpon geograficum türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 530 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 526 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 322 nükleotidin sabit (C), 196 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 128 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Rhizoplaca peltata türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 589 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 586 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 411 nükleotidin sabit (C), 167 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 121 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Tephromela atra türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 580 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 527 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 407 nükleotidin sabit (C), 114 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 39 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

Xanthoparmelia pulla türünün, ITS bölgesinin toplam baz uzunluğu yaklaşık olarak 568 bp olarak gözlemlenmiştir. ITS bölgesinin DNA dizisinden sıralanabilir 533 nükleotid elde edilmiştir. Bu bölgelerden 422 nükleotidin sabit (C), 93 nükleotidin değişken (V) olduğu bulunmuştur. Değişken bölgelerden 47 nükleotidlik bölgenin ise parsimoni informatif olduğu analizler sonucu ortaya çıkmıştır.

10 adet liken türünün ITS verilerine ait filogenetik analizi MEGA 6 [82] programı kullanılarak yapılmıştır. MEGA 6 ile 10 liken türünde de iki farklı filogenetik yöntem (Neighbour-Joining, UPGMA) göre dendrogramlar elde edilmiştir. Bu dendrogramlar Bulgular kısmında verilmiştir.

Elde edilen veriler ışığında Neighbour Joining ve UPGMA dendogramları oluşturulmuştur. Neighbour Joining dendogramlarına baktığımızda çalışılan türler kendi aralarında bir grup oluşturmuşlardır. Gen bankasından dış grup olarak aldığımız türler ise çalışmış olduğumuz türlerin dahil olduğu gruptan ayrılarak ikinci bir grup oluşturmuştur. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz türlerin içerisinde bulunduğu ana grup içerisinde tür bazında da ayrılarak yan dallanmalar göstermiştir. Bu dendogramlarda oluşan dallanmalar çeşitli yüzdelerde oluşmuştur. UPGMA dendogramlarına baktığımızda yine benzer grupları ve dallanmaları görmekteyiz. Bu iki farklı yöntemle (Neighbour Joining ve UPGMA) oluşturulan farklı dendogramlar incelendiğinde her iki dendogramın da birbirleriyle uyumlu olduğunu görülmüştür.

MGH0.139 kod numaralı örneğimizin yer aldığı dendogramlar incelendiğinde örneğimizin *Circinaria mansourii* türleri ile eşleştiği görülmüştür (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Bu tür Türkiye için yeni kayıt olarak verilmiştir.

Günümüz biyoteknolojisinde oldukça önemli bir yeri bulunan DNA dizi analizi yöntemi bu çalışmamızda kullanılmıştır. Örneklerin dizi analizleri elde edilmiş ve bu dizi analizleri sonucunda da iki farklı yöntem ile türlerin birbirleriyle olan yakınlık, uzaklık ve akrabalık dereceleri elde edilmiştir. Morfolojik ve anatomik karakterler moleküler yöntemlerle desteklenerek kesin sonuçlara ulaşılmıştır.

Şimdiye dek Türkiye’de liken biyoçeşitliliği ile ilgili çalışmaların büyük bir kısmı morfolojik karakterler göz önüne alınarak yapılmıştır. Bu floristik çalışmalarda tür teşhisi yapılan örneklerin moleküler olarak değerlendirilmesi; ülkemiz liken biyoçeşitliliğinin daha doğru ortaya konulabilmesi için son derece önemlidir.

Likenler, ülkemizde gösterdiği tür zenginliği ile Türkiye’deki biyoçeşitliliğin önemli bir kaynağıdır. Bu çalışma daha fazla lokalite ve tür ile geniş ölçekli olarak devam ettirildiği takdirde türler arasındaki ITS çeşitliliği, birçok liken cinsi içerisindeki evrimsel farklılaşmayı aydınlatmaya yardımcı olabilecektir. Bu ve benzeri araştırmalar Türkiye’deki zengin gen potansiyelinin ortaya çıkarılmasına ve korunmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Rambold, G., Triebel, D., 1992. The inter-lecanoralean associations, **Bibliotheca Lichenologica**, **48**, 3-201.
2. Hale ME., 1974. The Biology of Lichens. London: Cambridge, 1-200.
3. Ahmadjian V. 1993. The Lichen Symbiosis. New York: Wiley; 1-264.
4. Demmig-Adams, B., et al., 1990. Differences in the capacity of radiationless energy dissipation in the photochemical apparatus of green and blue-green algal lichens associated with differences in carotenoid composition. **Planta**, **180**, 9-582.
5. Karamanoglu, K., 1971. Türkiye'nin Önemli Liken Türleri, Ankara Üniv. Ecz. Fak. Mec. Cilt:1, Sayı: 1: 53-75 Ankara.
6. Tehler, A., "Systematics, phylogeny and classification," Lichen Biology (Ed: Nash III, T.H.), Cambridge University Press, Cambridge, 217-239.
7. Honegger, R., 1996. "Mycobionts," Lichen Biology (Ed: Nash III, T.H.), Cambridge University Press, Cambridge, 24-36.
8. Guzow, B., Gamiak, MK., Wegrzyn, G., 2001. Molecular determination keys: construction of keys for species identification based on restriction fragment length polymorphism. **International Archives of Bioscience**; 1057-67.
9. Steiner, J. 1905. *Lichenes*. In: Ergebnisse einer naturwissensch. Reise zum Erschias-Dagh (Kleinasien) von Dr. Arnold Penther und dr. Emerich Zederbauer im Jahre 1902. Ann. **Naturhistorisches Museum Wien** **20** (4): 369-384.
10. Güvenç, S. 2001. "Some lichen records from Kayseri province". **Ot Sistemik Botanik Dergisi** **8** (2): 143–150.
11. Halici M.G., John V., Aksoy A. 2005. "Lichens Of Erciyes Mountain (Kayseri, Turkey)". **Flora Mediterranea**. **15**: 567-580.
12. Bridge, PD., Hawksworth, DL., 1998. What molecular biology has to tell us at the species level in lichenized fungi. **Lichenologist**, **30**: 307–320.

13. DePriest, P., 2004. Early molecular investigations of lichen-forming symbionts: 1986–2001. **Annual Review of Microbiology**, **58**: 273–301.
14. Güner, H., 1986. Likenlerin Biyolojisi ve Ege Bölgesinde Bulunan Bazı Türleri, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kitaplar Serisi No: 92, İzmir. 7-8.
15. Ahmadjian, V., Hale, M.E., 1973. The Lichens, New York: Academic Press.
16. Rambold, G., Triebel, D., 1992. The inter-lecanoralean associations, **Bibliotheca Lichenologica**, **48**, 3-201.
17. Nash III, T.H., 1996. Lichen Biology, Cambridge University Press.
18. Kence, A., 2005. Türkiye' nin biyolojik zenginlikleri. (Web sitesi. <http://www.cevre.org> (Erişim Tarihi: 01.06.2015)).
19. Kabaoğlu, A., 2007, Türkiye'de bulunan *Hypogymnia* (Nyl.) Nyl. Türlerinde rDNA ITS bölgesi dizi analizi ile çeşitliliğin tanımlanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 72s.
20. <http://beforeitsnews.com/environment/2012/10/torches-of-freedom-2450902.html> (Erişim Tarihi: 01.06.2015).
21. <http://www.alm-neu.de/Jersey/thumbnails/3/Rhizocarpon%20richardii.htm> (Erişim Tarihi: 01.06.2015).
22. http://www.magney.org/photofiles/Ventura_County_Lichens.htm (Erişim Tarihi: 01.06.2015).
23. <http://www.uklichens.co.uk/species/Cladonia%20pocillum%20large.JPG> (Erişim Tarihi: 01.06.2015).
24. Mullis, KB., Faloona, FA., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a poliymerase catalysed chain reaction. **Methods in Enzymology**, **155**: 355-350.
25. Bridge, PD., Arora, DK., Reddy, CA., Elander, RP., 1998. Applications of PCR in Mycology. In: Crespo A, Cubero OF, Grube M, eds. PCR Applications in Studies of Lichen-forming Fungi. **Cab International**, 231-69.
26. White, TJ., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR

- Protocols: a guide to methods and applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.
27. Navajas, M., Lagnel, J., Gutierrez, J., Boursot, P., 1998. "Species-Wide Homogeneity of Nuclear Ribosomal ITS2 Sequences in the Spider Mite *Tetranychus Urticae* Contrasts with Extensive Mitochondrial Coi Polymorphism". **Heredity**, **80** (6): 742-752.
 28. Morgan, J., Blair, D., 1998. "Relative Merits of Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacers and Mitochondrial Co1 and Nd1 Genes for Distinguishing among *Echinostoma* Species (Trematoda)", **Parasitology**, **116** (3): 289-297.
 29. Perera, O.P., Cockburn, A.F., Mitchell, S.E., Conn, J., Seawright, J.A., 1998. "Species- Specific Repeat Units in the Intergenic Spacer of the Ribosomal Rna Cistron of *Anopheles Aquasalis* Curry", **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **59** (5): 673-8.
 30. Hwang, U.W., Kim, W., 1999. "General Properties and Phylogenetic Utilities of Nuclear Ribosomal DNA and Mitochondrial DNA Commonly Used in Molecular Systematics", **Korean J Parasitol**, **37** (4): 215-228.
 31. Edel, V., 1998. Polymerase Chain Reaction in Mycology: an Overview, 1-20, Bridge PD (ed), **CAB1 Publishing**, Wallingford, 357 pages.
 32. Gardes, M., Bruns, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes- application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology** **2**: 113-118.
 33. Baldwin, B.G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campell, C. S., Donoghue, M. J., 1995. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 250-272.
 34. Cerbah, M., Souza-Chies, T., Jubier, M.F., Lejeune, B. and Siljak-Yakovlev, S., 1998. "Molecular Phylogeny of the Genus *Hypochoeris* Using Internal Transcribed Spacers of Nuclear rDNA: Inference for Chromosomal Evolution", **Molecular Biology and Evolution**, **15** (3), 15, 345.

35. Eddie, W.M.M., Gaskin, T.S.J., Haberle, R.C. and Jansena, R.K., 2003. "Phylogeny of Campanulaceae S. Str. Inferred from Its Sequences of Nuclear Ribosomal DNA", *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **90**, 554.
36. <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/cell.html> (Erişim: 20.06.2015)
37. Baldwin B.G., 1992. "Phylogenetic Utility of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: an Example from the Compositae". **Molecular Biology and Evolution** **1**, 3.
38. Freeman S. and Herron, J.C., 1999. *Evrimsel Analiz*, Çıplak, B., Başbüyük. H. H., Karaytug, S., and Gündüz, G., Palme Yayıncılık.
39. Bruns, T.D., Fogel, R. and Taylor, J.W. 1990. Amplification and sequencing of DNA from fungal herbarium specimens. **Mycologia**, **82**, 175-184.
40. Taylor, J.W. and Swann, E.C. 1994. DNA from herbarium specimens. In: Herrman, B. and Hummel, S. (eds) *Ancient DNA*. Springer-Verlag, Berlin, 167-181.
41. Casares, M. P., Hafellner, J., Gutierrez, L.C., 1996. Species of the genus *Lecidea* (Lecanorales) on gypsum in Spain. **Lichenologist**, **28**: 37-47.
42. Goffinet, B., Bayer, R., 1997. Characterization of mycobionts of phototype pairs in the Peltigerineae (lichenized ascomycetes) based on ITS sequences of specifically amplified fungal ribosomal DNA. **Fungal Genetics and Biology**, **21**: 228-237.
43. Arup, U., Grube M., 1998. Molecular systematics of *Lecanora* subgenus *Placodium*. **The Lichenologist**, **30** (4-5): 415-425(11).
44. Mattsson, J.-E., Wedin, M., 1998. Phylogeny of the Parmeliaceae – DNA data versus morphological data. **Lichenologist**, **30**: 463-472.
45. Wedin, M, Döring, H., Mattsson, J. E., 1999. A multi-gene study of the phylogenetic relationships of the Parmeliaceae. **Mycological Research**, **103**: 1185-1192.

46. Ivanova, N., DePriest P. T., Bobrovas V. K., Troitskys, A. V., 1999. Phylogenetic analysis of the lichen Umbilicariaceae based on nuclear ITS1 and ITS2 rDNA sequences. **Lichenologist**, **31** (5): 477-489.
47. Dyer, P.S., Murtagh, G.J., 2001. Variation in ribosomal ITS sequence of lichens *Buellia frigida* and *Xanthoria elegans* from vestfold Hills, Eastern Antarctica. **Lichenologist**, **33**: 151-159.
48. Krzeminska, B.G., Gorniak M., Wegrzyn, G., 2001. Molecular determination keys: construction of keys for species identification based on restriction fragment length polymorphism. **International Archives of Bioscience** 1057-1067.
49. Grube, M., Arup, U., 2001. Molecular and morphological evolution in the Physciaceae (Lecanorales, lichenized Ascomycotina), with special emphasis on the genus *Rinodina*. **Lichenologist** **33** (1): 63-72.
50. Murtagh, GJ., Dyer, PS., Furneaux, PA., Crittenden, PD., 2002. Molecular and physiological diversity in the bipolar lichen-forming fungus *Xanthoria elegans*. **Mycological Research**, **106**: 1277–1286.
51. Molina, M., Crespo, A., Blanco, O., Hladun, N., Hawksworth, D.L., 2002. Molecular phylogeny and status of *Diploicia* and *Diplotomma*, with observations on *Diploicia subcanescens* and *Diplotomma rivasmartinezii*, **Lichenologist**, **34**: 509-519.
52. Martin, M.P., LaGreca, S. and Lumbsch, T. 2003. Molecular phylogeny of *Diploschistes* inferred from ITS sequence data. **Lichenologist**, **35**, 27-32.
53. Lindblom, L., Ekman, S., (2004). Molecular evidence supports the distinction between *Xanthoria parietina* and *X. aureola* (Teloschistaceae, lichenized Ascomycota). **Mycological Research** **109** (2): 187-99.
54. Buschbom, J., Mueller, G., 2004. Resolving evolutionary relationships in the lichenforming genus *Porpidia* and related allies (Porpidiaceae, Ascomycota). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **32**: 66-82.

55. Rios, A., Sancho, L., Grube, M., Wierzos, J., Ascaso, C., 2005. Endolithic growth of two *Lecidea* lichens in granite from continental Antarctica detected by molecular and microscopy techniques. **New Phytologist** **165**: 181-190.
56. Lindblom L, Ekman S., (2006). Genetic variation and population differentiation in the lichen-forming ascomycete *Xanthoria parietina* on the island Storfosna, central Norway. **Molecular Ecology** **15** (6): 1545-59.
57. Cansaran, D., Aras, S., Kandemir, İ., Halıcı, M.G., 2006. Phylogenetic relations of *Rhizoplaca* Zopf from Anatolia inferred from ITS sequence data. **Zeitschrift für Naturforschung**, **61c**: 405-412.
58. Aras, S., Cansaran, D., Özdemir Türk, A., Kandemir, İ., Candan, M., 2007. Resolving genetic relationships in manna group of lichens from genus *Aspicilia*. **African Journal of Biotechnology**, **6** (11): 1154-1160.
59. Muggia, L., Grube, M., Tretiach, M., 2008. Genetic diversity and photobiont associations in selected taxa of the *Tephromela atra* group (Lecanorales, lichenised Ascomycota). **Mycological Progress** **7**: 147-160.
60. Jolanta Miadlikowska, Conrad L. Schoch, Stacie A. Kageyama, Katalin Molnar, François Lutzoni, and Bruce McCune, 2013. *Hypogymnia* phylogeny, including *Cavernularia*, reveals biogeographic structure. **The Bryologist** **114** (2):392-400.
61. Rolstad J., Ekman S., Andersen H.L, Rolstad E., 2012 . Genetic variation and reproductive mode in two epiphytic lichens of conservation concern: a transatlantic study of *Evernia divaricata* and *Usnea longissima*, **Botany**, **91** (2): 69-81.
62. Liu-Fu HAN, Ya-Ya ZHANG, Shou-Yu GUO., 2013. *Peltigera wulingensis*, a new lichen (Ascomycota) from north China, **The Lichenologist**, **45** (03): 329-336.
63. Klug, W.S., Cummings, R. M., 2002. Genetik. Öner, C. (eds.), Palme Yayıncılık, 381-383, Ankara.
64. Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F. and Donoghue, M.J., 1995. "The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable

- source of evidence on Angiosperm phylogeny". **Annals of the Missouri Botanical Garden**, **82**: 247.
65. Elsevier, B.V., 2004. "Determination of the total flavonoid-content of *S. coronata*, *S. wolffii* and *S. tinctoria* by spectrophotometry", **J. Fitoterapia**, **75**: 162.
66. Kabaoğlu, A., 2007. Türkiye’de Bulunan Hypogymnia (Nyl.) Nyl. Türlerinde rDNA ITS Bölgesi dizi analizi ile çeşitliliğinin tanımlanması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 86 s.
67. Saitou N., İmanishi, T., 1989. Relative efficiens of the Fitch-Margoliash, Maximum Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution and Neighbour-Joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. **Molecular Biology and Evolution**, **6**: 514-525.
68. Freeman S., Herron, J.C., 1999. Evrimsel Analiz. Çıplak, B., Basıbüyük. H. H., Karaytuğ. S. ve Gündüz. İ. (eds.), Palme Yayıncılık, 28-29: 438-449.
69. Mount, D., 2001. Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, Chapter 7, Phylogenetic prediction, 281-324.
70. Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. "CLUSTALW: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Position Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice". **Nucleic Acid Research**, **22**: 4673-4680.
71. Kress, W. J. L. M., Prince, K. J., Williams., 2002. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. **American Journal Botany** **89**: 1682-1696.
72. Felsenstein, J., 1987. Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. **Molecular Evolution** **26**: 123-31.
73. Felsenstein, J., 1987. "Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set", **Molecular Evolution** **26**: 123.
74. Başbüyük, H. H., Bardakçı, F., Belshaw, R., Quicke, D. L. J. 2000. "Phylogenetic Systematics". Önder Matbaa, Sivas.

75. Mount, D. 2001. Bioinformatics, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, Chapter 7, Phylogenetic prediction, 281.
76. Wunder, H., Schwarzfrüchtige, 1974. Saxicole Sippen der Gattung Caloplaca (Lichenes, Teloschistaceae) in Mitteleuropa, dem Mittelmeergebiet und Vorderasien, **Bibliotheca Lichenologica 3**, 1-186.
77. Wirth, V., 1980. Flechten flora. Ulmer, Stuttgart.
78. Purvis, O.W., et al., 1992. The Lichen Flora of Great Britain and Ireland, London, Natural History Museum Publications.
79. Brodo, M., Sharnoff, S. D., Sharnoff, S., 2001. Lichens of North America. Yale University Press/ New Haven and London.
80. <https://www.qiagen.com/tr/resources/resourcedetail?id=95dec8a9-ec37-4457-8884-5dedd8ba9448&lang=en> (Erişim Tarihi: 01.06.2015).
81. Aras, S., Cansaran, D. 2006. Isolation of DNA for sequence analysis from herbarium material of some lichen species. **Turkish Journal of Botany 30**: 449- 453.
82. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution 28**: 2731-2739.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Mehmet Ünsal BARAK

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 28 Mart 1988, Kırıkkale

Medeni Durumu: Bekâr

Yazışma Adresi: Yenidoğan Mah. Bilge Kağan Cad. Toki Kümeevler C3/6 Blok No:21
Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik A.B.D	-----
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2010
Lise	Kırıkkale Süleyman Demirel Lisesi	2005

YABANCI DİL

İngilizce