

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**IHLAMUR GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
MOLEKÜLER, MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
OLARAK BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Gülşen BARUT**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Şubat 2024
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

IHLAMUR GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
MOLEKÜLER, MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
OLARAK BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Gülşen BARUT

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2023-12462 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Şubat 2024
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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.

Gülşen BARUT

İmza

“Ihlamur Genotiplerinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler, Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Gülşen BARUT

İmza

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ

İmza

Bahçe Bitkileri ABD Başkanı

Prof. Dr. Ercan YILDIZ

İmza

TEŞEKKÜR

Lisans hayatımdan bu yana bana her alanda yardımcı olan, beni destekleyen, yoluma ışık tutan, olumsuz şartlara her daim çözüm ve öneriler sunan, her zaman hoşgörüsü, nezaketi, ile eğitim hayatım boyunca bana destek olan, çalışmalarım süresince her türlü yardımı sağlayan, tez konumun belirlenmesi ve tüm aşamalarında benimle olan ve bilgilerini daima benimle paylaşan, sevgili danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ'ye teşekkürlerimi sunmaktan onur duyarım.

Lisans hayatımdan bu yana bana desteklerini esirgemeyen, doğru olanı seçip ilerlememde bana yardımcı olan yüksek lisans hayatımda da bana yol gösterip bilgilerini benden esirgemeyen ve her türlü yardımı sağlayan benim için çok değerli olan hocam Prof. Dr. Halit YETİŞİR'e

Tez çalışmalarımın yürütülmesinde ve laboratuvar çalışmalarında emeklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Kevser KARAMAN' a

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde yardımları olan sevgili arkadaşlarım Fatma BULUT ve Hande Seda ÖZDAL'a,

Laboratuvar çalışmalarımı gerçekleştirirken her zaman yanımda olan bilgileri ve manevi destekleriyle bana bu süreçte destek olan sevgili arkadaşım Beyza ÇİFTÇİ'ye,

En önemlisi de tüm yaşamım boyunca beni her zaman destekleyen, her zaman arkamda olan varlıklarına bin şükran duyduğum aileme, bu süreçte her türlü zorluğu birlikte atlattığımız ve daima yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Gülşen BARUT

Şubat 2024, KAYSERİ

IHLAMUR GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER, MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ

Gülşen BARUT

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2024
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ

ÖZET

Ihlamur *Tiliaceae* familyası içerisinde bulunan değerli bir süs ve tıbbi aromatik bitkidir. Bu tez çalışması, Türkiye'nin farklı bölgelerinden 4 farklı türe (*Tilia tomentosa*, *Tilia cordata* subsp. *cordata*, *Tilia platyphyllos* Scop ve *Tilia argentea*) ait 52 ıhlamur genotipinde genetik çeşitliliği moleküler, morfolojik ve biyokimyasal olarak belirlemeyi amaçlamıştır. Morfolojik özellikler açısından, örneklenen ıhlamur genotipleri ortalamaları yaprak eni 67,20 mm, yaprak boyu 77,56 mm, brakte yaprak eni 16,99 mm ve brakte yaprak boyu 79,40 mm olarak belirlenmiştir. Biyokimyasal özellikler açısından, her bir türe ait genotiplerden örnekler karıştırılarak çiçek ve çiçek+brakte yaprak olmak üzere 8 farklı grup oluşturulmuş ve uçucu bileşenleri belirlenmiştir. En yüksek uçucu bileşenlerin benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl), benzeneethanol, benzenemethanol, 1-Decyne, Furan, 2-pentyl, N-benzylidene-dimethylammonium chloride, m-Cymen-8-ol, nonanoic acid ve (3E, 5E)-3,5-octadien-2-one olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, ıhlamur genotiplerinin fenolik madde miktarları ve DPPH antiradikal aktivite oranları tespit edilmiş, fenolik madde miktarları 3.63 ile 77.02 mg GAE/g arasında, DPPH antiradikal aktivite değerleri ise %5.30 ile %93.23 arasında değiştiği belirlenmiştir. Genetik benzerlik ve farklılıklar, ISSR ve iPBS moleküler markörleri kullanılarak belirlenmiştir. Toplamda 181 bant elde edilmiş, bunlardan 169'unun polimorfik bant olduğu tespit edilmiştir. Ihlamur genotiplerinin genetik benzerlik oranları 0.43 ile 0.82 arasında değişmektedir. Bu tez çalışması, ıhlamur genetik çeşitliliğinin belirlenmesine katkı sağlamıştır ve gelecekte yapılacak çalışmalar için temel oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: Ihlamur, *Tiliaceae*, ISSR, iPBS, Uçucu Bileşen, DPPH



ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY IN LINDEN GENOTYPES BY MOLECULAR, MORPHOLOGICAL, AND BIOCHEMICAL APPROACHES

Gülşen BARUT

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, February, 2024

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Akife DALDA ŞEKERCİ

ABSTRACT

This thesis aims to determine the genetic diversity of linden in molecular, morphological, and biochemical aspects by sampling 52 linden genotypes from different regions of Turkey, including four different species (*Tilia tomentosa*, *Tilia cordata* subsp. *cordata*, *Tilia platyphyllos* Scop, and *Tilia argentea*). The linden genotypes were evaluated based on morphological characteristics, revealing measurements of 67,20 mm for true leaf width, 77,56 mm for true leaf length, 16,99 mm for bract width, and 76,40 mm for bract length. Biochemical analyses were conducted on linden genotypes by preparing mixtures from each of the four species, creating eight different groups consisting of flower only and flower+bract leaf, and determining volatile oil content. The highest essential components were identified as benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl), benzeneethanol, Benzenemethanol, 1-Decyne, Furan, 2-pentyl, N-benzylidene-dimethylammonium chloride, m-Cymen-8-ol, nonanoic acid and (3E, 5E)-3,5-octadien-2-one. Additionally, the phenolic content and DPPH radical scavenging activity of linden genotypes were determined, showing phenolic content ranging from 3.63 to 77.02 mg GAE/g and DPPH radical scavenging activity values varying between 5.30% and 93.23%. Genetic similarities and differences were determined using ISSR and iPBS molecular markers. A total of 181 bands were obtained, with 169 of them being polymorphic bands. The genetic similarity ratios of linden genotypes ranged from 0.43 to 0.82. This thesis contributes to the determination of linden genetic diversity in morphological, biochemical, and molecular aspects, providing a foundation for future studies.

Keywords: Linden, *Tiliaceae*, ISSR, iPBS, Essential Content, DPPH



İÇİNDEKİLER

İHLAMUR GENOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER, MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
GİRİŞ.....	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Ihlamurun Bitkisel Özellikleri ve Orjini.....	4
1.2. Dünya’da ve Türkiye’de Ihlamurun Dağılımı ve Morfolojik Özellikleri.....	9
1.3. Ihlamurun Biyokimyasal Özellikleri ile İlgili Çalışmalardan Bazıları.....	11
1.4. Ihlamurun Moleküler Düzeydeki Çalışmalarından Bazıları.....	17

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal.....	20
2.1.1. Bitkisel Materyal.....	20
2.2. Yöntem.....	25
2.2.1. Morfolojik Karakterizasyon.....	25
2.2.2. Biyokimyasal Analizler.....	26
2.2.2.1. Uçucu Bileşenleri Analizi.....	26

2.2.2.2. Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Belirlenmesi	26
2.2.2.3. Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizi	29
2.2.3. Moleküler Karakterizasyon	31
2.2.3.1. DNA İzolasyonu	31
2.2.3.2. PCR Analizleri	32
2.2.3.2.1. ISSR Moleküler Belirteçleri ile Karakterizasyon..	32
2.2.3.2.2. iPBS Moleküler Belirteçleri ile Karakterizasyon..	32

3. BÖLÜM

BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Morfolojik Özelliklere Ait Bulgular	34
3.2. Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular	47
3.2.1. Uçucu Bileşenlerine ait Bulgular	47
3.2.2. Toplam Fenolik Madde Miktarına ait Bulgular	57
3.2.3. Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizine Ait Bulgular	58
3.3. Moleküler Karakterizasyon Bulguları	60

4. BÖLÜM

SONUÇ	70
KAYNAKÇA	72
ÖZGEÇMİŞ	81

KISALTMALAR ve SİMGELER

%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
UPOV	: Bitki Çeşitlerinin Korunması Uluslararası Birliği
cm	: Santimetre
CTAB	: Setiltri-metil amonyum bromür
D	: Doğu
da	: Dekar
dH ₂ O	: Distile su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleik Asit Trifosfat
EC	: Electrical Conductivity (Elektriksel İletkenlik)
EDTA	: Etilen diamintetraasetikasit
EO	: Eozinofil
EtOH	: Etanol
g	: Gram
GC-FID	: Gaz Kromatografi-Alev İyonlaştırma Detektörü-Kütle Spektrometresi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi
HCl	: Hidrojen klorür
HS-SPME	: Solid Phase Microextraction
ISSR	: Internal Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları Arası)
iPBS	: Inter Retrotransposon Binding Site
m	: Metre
M	: Molar
m ³	: Metreküp
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar

NADH	: Nikotinamidadenindinükleotit
ng	: Nanogram
°C	: Santigrad Derece
UPGMA	: Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Metodu
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
rmp	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
sn	: Saniye
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TE	: Tris-EDTA
Tris	: Hidrosimetil Aminometan
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages (Aritmetik
UPOV	: International Union for the Protection of New Varieties of Plants (Uluslararası Yeni Bitki Çeşitlerinin Korunması Birliği)
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
W	: Watt (Güç Birimi)

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Ihlamur Bitkisel Materyaline ait Tür Adı, Yaprak Yapısı Ve Örnek Yeri Bilgileri.....	24
Tablo 3.1.	Ihlamur Türlerinin Yaprak Özellikleri	39
Tablo 3.2.	Ihlamur Gerçek ve Brakte Yapraklarının En ve Boy Ölçüm Sonuçları	40
Tablo 3.3.	Ihlamur Genotiplerinin Uçucu Bileşenlerinin Oranları.....	54
Tablo 3.4.	Dört farklı türe ait 52 ihlamur genotipinin toplam fenolik madde miktarları.....	58
Tablo 3.5.	Ihlamur Genotiplerinin Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizi Sonuçları.	60
Tablo 3.6.	ISSR ve İpbs Primerleri İle Elde Edilen Toplam Bant, Polimorfik Bant, Polimorfizm Oranları ve Bant Büyüklüklerine Ait Veriler	61
Tablo 3.7.	Çalışmada Kullanılan ISSR ve İPBS Primerlerinin Polimorfizm Oranları	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Ihlamur Ağaçlarından Bitkisel Materyalinin Toplanması	21
Şekil 2.2. Ihlamur Bitkisel materyalinin farklı genotiplerine ait görsel.....	21
Şekil 2.3. Bitkisel Materyallerin Elde Edildiği Konumlara Ait Google Eart Uydu Görüntüsü.....	22
Şekil 2.5. Fenolik Madde Tayini İçin Bitki Materyalinin Hazırlanması.....	27
Şekil 2.6. Fenolik Madde Analizinde Kullanılan Malzemeler	28
Şekil 2.7. Fenolik Madde Analizinin Yapılma Aşamaları.....	28
Şekil 2.8. Antiradikal Aktivite Analizi İçin Kimyasal Hazırlığı	29
Şekil 2.9. Antiradikal Aktivite Sonuçlarının Okunma Aşaması.....	30
Şekil 2.4. Genomik DNA'nın PCR İle Çoğaltılması İşlemlerine Ait Görsel.....	33
Şekil 3.1. Türkiye'de Doğal Yayılış Gösteren Ihlamur Türlerinin Gövde Yapıları	35
Şekil 3.2. Ihlamur Ağaçlarının Genel Görünümleri.....	36
Şekil 3.3. Ihlamur Ağaçlarında Sürgün ve Tomurcuk Yapısı.....	37
Şekil 3.4. Farklı Ihlamur Türlerinin Gerçek Yapraklarına Ait Görseller	38
Şekil 3.5. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Gerçek Yapraklarına Ait Görseller	38
Şekil 3.6. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Brakte Yapraklarına Ait Görsel	39
Şekil 3.8. Genotip Numaralarına Göre Gerçek Yaprak Eni Dağılımını.....	42
Şekil 3.9. Genotip Numaralarına Göre Gerçek Yaprak Boyu Dağılımını.....	43
Şekil 3.11. Genotip Numaralarına Göre Brakte Yaprak Boyu Dağılımını	44
Şekil 3.12. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Çiçeklerine Ait Görseller	45
Şekil 3.13. Farklı Genotiplerin Çiçek Saklımındaki Çiçek Sayılarına Ait Görseller	46
Şekil 3.14. Kullanılan Ihlamur Çiçekleri.....	47
Şekil 3.15. <i>Tilia cordata</i> subsp. <i>cordata</i> Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	49
Şekil 3.16. <i>Tilia platyphyllos</i> Scop Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	50
Şekil 3.17. <i>Tilia tomentosa</i> Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	50

Şekil 3.18. <i>Tilia argentea</i> Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	51
Şekil 3.19. <i>Tilia cordata</i> subsp. <i>cordata</i> Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.....	51
Şekil 3.20. <i>Tilia platyphyllos</i> Scop. Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	52
Şekil 3.21. <i>Tilia tomentosa</i> Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü	52
Şekil 3.22. <i>Tilia argentea</i> Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.....	53
Şekil 3.23. Çalışmada 2379 iPBS primeri ile elde edilen jel görüntüsüne ait görsel.....	64
Şekil 3.24. Ihlamur genotiplerinde iPBS ve ISSR primerlerinin Dice'ye göre UPGMA analizi dendogramı	66
Şekil 3.25. Ihlamur genotiplerinde iPBS ve ISSR primerlerinin Jagarda'ya göre UPGMA analizi dendogramı.....	67
Şekil 3.26. Principal Component Analysis (PCA) ile Elde Edilen İpbs Verileriyle Ihlamur Türünde Elde Edilen İki ve Üç Boyutlu Grafikler.	68

GİRİŞ

Türkiye toprakları içerisinde bulunduğu coğrafi konumun da etkisi göz önüne alındığında biyolojik çeşitliliğin dünya çapında farklı ülkelere kıyasla yoğun olduğu görülmektedir. Türkiye topraklarının % 27 oranında orman alanları olduğu, bunun yanı sıra içerisinde farklı bitkileri ve canlı yaşamlarını barındırmakta olduğu bilinmektedir. Bunun en önemli sebeplerinden biri de Türkiye'nin farklı iklim ve bununla beraber farklı toprak koşullarına sahip olması sonucunda biyolojik çeşitliliğin yoğun olmasıdır (Yurdaer ve Demirci, 2009).

Günümüzde her geçen gün artmakta olan hava kirliliğinin beraberinde getirmekte olduğu küresel ısınma için en iyi önlemlerden birinin yeşil alanların ve orman alanların artırılması olduğu bilinmektedir. Hava kirliliğinin yoğun olarak görülmekte olduğu kent yaşamlarında egzoz dumanları, parfümler ve çeşitli iklim koşullarının sebep olduğu zorlu yaşam şartlarına uyum sağlayan ağaçların tercih edilmesi gerektiği tespit edilmiştir (Rajendra, 2009; Pigott, 2012). Olumsuz şartlara uyum sağladığı bilinen ıhlamur ağaçlarının kent alanlarında genellikle tercih edildiği bilinmektedir. Çoğunlukla şehir parklarında, yol kenarlarında ve çiftliklerde yetiştirilmektedir. Ayrıca kötü hava şartlarına uyumlu, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı olarak yaşayabildikleri için şehir içi peyzajı için de uygundur. Çiçeği arıcılık ve farmakoloji açısından değerlidir (Pawlikowski, 2010; Weryszko-Chmielewska ve Sadowska, 2010; Pigott, 2012). Ülkemizde ıhlamur ağaçlarının çoğu orman alanlarda, şehir merkezlerinde kaldırımlarda ve park alanlarda bulunmaktadır.

Dünya genelinde ıhlamurların Kuzey Yarımkürede ılıman ve subtropik iklimlerde doğal yayılış gösterdiği bilinmektedir. Ihlamur ile ilgili genel bilgilere bakıldığında yaklaşık olarak bilinen 40'dan fazla türü olduğu bilinmektedir. Fakat Türkiye topraklarında

doğal yayılış gösteren ıhlamur türleri *Tilia tomentosa* Moench., *Tilia cordata* subsp. *cordata* ve *Tilia platyphyllos* Scop olduğu bilinmektedir (Davis, 1970). Türkiye sınırları içerisinde en yoğun olarak yayılış gösteren türün *T. tomentosa* olduğu tespit edilmiştir (Davis, 1970). Bunun yanı sıra ıhlamur ağaçlarına ve çiçeklerine olan ilginin her geçen gün arttığı ve çeşitli alanlarda kullanımının olduğu bilinmektedir. Türkiye topraklarında Ortaçağ'dan beri varlığı bilinen ıhlamur ağaçları bu topraklarda yaşam sürmüş olan birçok insan tarafından iyileştirici özelliğinin olduğu benimsenmiştir.

Türkiye'de bulunan çoğu odunsu bitki üzerinde yapılan çalışmalar bitkilerin özelliklerini tam anlamıyla yansıtmamaktadır. Bu sebeple odunsu bitkiler üzerinde yapılacak araştırmaların önünün açık olduğu ve bu sektör üzerine bilimsel araştırmaların yapılması gerektiği gözlemlenmektedir. Türkiye toprakları içerisinde bulunan ve doğal yayılış gösteren ıhlamur türleri de bu gruba girmektedir. ıhlamurlar üzerine yapılmış olan çalışmalar Türkiye'de oldukça sınırlı olmasının yanı sıra dünya çapında da yeteri kadar kapsamlı bilimsel araştırmanın olmadığı görülmektedir. Her geçen gün süs bitkilerine ve ıhlamur gibi tıbbi aromatik bitkilere olan talebin ve ihtiyacın artması göz önünde bulundurulduğunda bu alanda yapılacak olan çalışmaların değerinin giderek artmakta olduğu söylenebilmektedir.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmada, Türkiye topraklarında doğal yayılış göstermekte olan *Tilia tomentosa* Moench., *Tilia cordata* subsp. *cordata*, *Tilia argentea* ve *Tilia platyphyllos* Scop türlerine ait 52 genotip üzerinde çalışmalar yürütülmüş olup bu çalışmanın amacı;

- Farklı bölgelerden toplanmış olan farklı türlere ait ıhlamur genotiplerinin, morfolojik özellikleri bakımından karakterize edilmesi,
- Farklı ekolojik koşullarda yetişmiş olan ıhlamur ağaçlarından yapılan örneklemeler ile ıhlamur genotiplerini biyokimyasal özellikleri bakımından karakterize ederek, toplam fenolik madde miktarlarını, antiradikal aktivite oranlarını belirlemek ve uçucu bileşenlerini tespit etmek,

- Türkiye sınırları içerisinde yayılış gösteren ıhlamur genotiplerinin ISSR ve iPBS moleküler markörleri yardımıyla genetik benzerlik ve farklılıklarını tespit etmektir.



1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İhlamurun Bitkisel Özellikleri ve Orjini

Süs bitkileri geçmişten günümüze kadar birçok medeniyetlerde ve uygarlıklarda çok kıymetli bir yere sahip olmuştur. Yüzyıllardır süs bitkilerinin bazen dış güzellikleriyle buldukları ortamın güzelliğini arttırması hoş kokuları ve hastalıklara şifa olmasıyla hem ruhen hem de bedenen insanoğluna iyi geldiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra süs bitkilerinin kullanım alanları oldukça geniş bir alan kaplamaktadır. Süs bitkileri renkli dış görünüşleriyle kent yaşamı içinde doğaya olan özlemin giderilmesine yardımcı olarak dış ve iç mekânların güzelleştirilmesi, tarım, ilaç ve kozmetik gibi alanlarda önemli bir yer kaplamaktadır.

Dünya genelinde süs bitkileri alanı kendi içerisinde 4 grupta incelenmektedir: Bunlar kesme çiçekler, iç mekân süs bitkileri, dış mekân süs bitkileri ve doğal çiçek soğanlarıdır. İhlamur bu grup içerisinde dış mekân süs bitkileri grubunda, süs ağaçları alt grubunda bulunmaktadır (Kazaz, 2021).

Süs bitkileri dünyada ve ülkemizde ekonomik potansiyeli yüksek bir sektördür. Bu sektör ekonomik olarak yüksek oranda katma değer sağlamaktadır. Farklı iklim şartlarında farklı özelliklere sahip süs bitkileri yetiştirilebilme imkânı bulunmaktadır. Bu sebeplerden dolayı ihracat ve ithalat potansiyeli yüksek bir alan olmaktadır (Kazaz, 2021).

Orman alanlarında büyük ihtiyaç duyulan ihlamur ağaçlarının Türkiye’de 4 türü doğal şekilde bulunmaktadır. Türkiye sınırları içerisinde sınırlı bir alanda bulunan orman

alanlarında takriben 11.522,9 hektarlık alan içerisinde ıhlamur ağaçlarının olduğu düşünülmektedir. Ihlamur bulunan orman alanlarından takriben %17'sinin yapıları bozulmuş ormanlardır (Anonim, 2013).

Dünya'da birçok bitki yapısı bulunmakta olup *Tiliaceae* familyası içerisinde bitki yapısı bulunmakta olup *Tilia*'nın takriben 35 cinsi ve 300 taksonu bulunduğu bilinmektedir. *Tilia* 'Cronquist Sınıflandırma Sistemi' ne bakıldığında *Tiliaceae* familyası içerisinde olduğu bilinmektedir. Fakat 'Angiosperm Fenoloji Grubu' yapmış olduğu çalışmalar sonucunda *Tilia* cinsinin *Malvaceae* familyasına dâhil olduğunu bildirmiştir (Pigott, 2012).

Ihlamur Linnaeus'un kaleme almış olduğu birçok kitap sayesinde tanımlanmıştır. *Tilia* cinsi ılıman iklimlerde kolay yayılış ve çeşitlilik gösterebilmektedir. Bu sebeple kuzey yarım kürede takriben 40 türünün olduğu düşünülmektedir. Yabancı kaynaklarda Ihlamur 'lime, basswood ya da linden' şeklinde isimlendirilmektedir. Genellikle nemli ve humuslu alanlarda hızlı dağılış gösterebilir fakir ve hava kirliliğinin yoğun olduğu bölgelerde toleransı yüksek bitkilerdir (Rajendra, 2009; Pigott, 2012).

Ihlamur *Malvaceae* familyasının, *Tilia* cinsine ait olup, anavatanı Avrupa olduğu bilinen *T. cordata* Mill. ülkemizde dış mekân süs bitkisi olarak park ve bahçelerde güzelliği ve kokusuyla yer bulmaktadır (Kayacık, 1968; Anşin ve Özkan, 2006).

Türkiye'de ıhlamurun dört türü *Tilia tomentosa* Moench. (Gümüşi ıhlamur), *Tilia cordata* subsp. *cordata*. (küçük yapraklı kış ıhlamuru), *Tilia platyphyllos* Scop (büyük yapraklı yaz ıhlamuru) ve *Tilia dasystyla* subsp. *caucasica* doğal olarak farklı bölgelerde yayılış göstermektedir (Demir, 2003; Pigott, 2012).

Dünya genelinde bulunan ıhlamur türleri ise; *Tilia amurensis*, *T. americana*, *Tilia chinensis*, *Tilia dasystyla*, *Tilia kiusiana*, *Tilia paucicostata*, *Tilia platyphyllos*, *Tilia tuan*, *Tilia tomentosa*, *Tilia sabetii*, *Tilia nasczokinii*, *Tilia tomentosa*, *Tilia nobilis*, *Tilia stellatopilosa*, *Tilia oliveri*, *Tilia taishanensis*, *Tilia mongolica*, *Tilia jiaodongensis*, *Tilia miqueliana*, *Tilia japonica*, *Tilia membranacea*, *Tilia insularis*, *Tilia maximowicziana*, *Tilia henryana*, *Tilia mandshurica*, *Tilia endochrysea*, *Tilia likiangensis*, *Tilia chingiana*, *Tilia kueichouensis*, *Tilia callidonta* ve *Tilia begoniifolia* olarak belirtilmiştir (Ay Ak, 2020).

Ihlamur bitkisi dünyada yaklaşık olarak 40'tan fazla türü bulunan bir bitki grubudur. Ihlamurların hem ılıman hem de yarı tropik alanlarda yetiştiriciliğinin yapılabilmesi nedeniyle birçok farklı alanda yetiştirildiği görülmektedir. Bu sebeple de yetiştiricilik alanları her geçen gün artmaktadır. Ihlamur bitkisi çoğu zaman çay şeklinde tüketilmesinin yanı sıra hoş kokusu sebebiyle de başta kozmetik olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Strother, 2020). Doğal yayılış gösteren türler arasında bulunan ve en çok kullanılan tür Marmara ve Batı Karadeniz bölgelerimizde görülen Gümüşi ihlamur (*T. tomentosa*) türüdür (Saatçioğlu, 1976; Yaltrık 1988; Anşin ve Özkan, 2006).

Ihlamurlar, morfolojik özellikleri bakımından incelendiğinde, ılıman ve yarı tropik iklimlerde yetişen bir ağaç türüdür. Boyları genelde 25-45 metre yüksekliğindedir. Asıl yaprakları kalp şeklinde genellikle koyu yeşil renkte kalın ve asimetrikler. Bunun yanı sıra çiçeklerinin yanında bulunan brakte yapraklar oval şekilde olup açık yeşil ya da sarı renklindedir. Brakte yaprakların boyu uzun enleri kısadır. Çiçek saplarıyla birleşik şekildedirler. Ihlamurların çiçekleri hermafrodit yapıdadır. Çiçekleri genellikle bir çiçek sapı üzerinde 5 ila 7 çiçek sayısına sahiptirler. Çiçekleri 5 tane taç 5 tane çanak yapraktan oluşmaktadır. Ihlamur çiçeklerinin renkleri genellikle sarımsı krem renklere sahiptir. Meyveleri küremsi ve sert yapılıdır. Ihlamur meyveleri kapalı meyvelerdir. Kendilerine has kokuları vardır (Kayacık, 1968; Anşin ve Özkan, 2006).

Ekolojik özellikleri bakımından ılıman, yarı tropik alanlarda yetiştiriciliği yapılan ihlamur ağaçları kireçli, verimli ve serin toprakları severler. Genellikle çok seçici olmamaları sebebiyle taban suyu yüksek, bol humuslu ve kumlu topraklarda da yetiştirilebilmektedir. Bunu yanı sıra az derin ve kireçli topraklarda da yetiştirilebilmektedirler. Ihlamur ağaçları hızlı büyürler ve sürgün verme özelliğine sahiptirler. Fazla güneş alamayan ortamlarda da yetiştiriciliği yapılabilir. Gölgeye dayanıklıdır (Saatçioğlu, 1976; Radoglou ve ark., 2008; Pigott, 2012).

Ihlamurların genel olarak tohumla üretimlerinin yapıldığı görülmektedir (Ay Ak, 2020). Ihlamur ağaçları uzun ömürlü bitkiler olduğu için uzun yaşamları içerisinde tohumların çimlenmesi kısa bir zaman almakta ve yeni yaşam döngüsünün temelini oluşturmaktadır (Dirik ve ark., 1999). Tohumların olgunlaşma süreleri buldukları alana, neme, iklime

ve birçok coğrafi şartlara göre farklılık göstermektedir. Tohumların doğru koşullar altında toplanması istenilen çimlenme koşullarının sağlanmasına etki etmektedir. Ilıman kuşakta yer alan ıhlamur ağaçları için genellikle sonbahar aylarında tohumların istenilen gelişmeyi gösterdiği bilinmektedir (Olson ve ark., 1974; Suszka ve ark., 1996; Rowe ve Blazich, 2008). Genellikle tohumla üretimi sağlanmakta olan ıhlamur bitkisi için en uygun üretim şeklinin bu yöntem olduğu bilinmektedir. Fakat çimlenme esnasında istenmeyen durumlar meydana gelebilir ve bu durum çimlenmenin daha sonraki yıllara ertelenmesine neden olmaktadır. Ihlamur tohumlarının çimlenmesinin ardından geçen ilk 10-12 yıl çiçeklenme gerçekleşmemektedir. Azalmakta olan türler için türlerin önemli özelliklerinin varlığını devam ettirerek vejetatif olarak üretim sağlanabilmektedir (Hartmann ve ark., 2002).

Ihlamur (*Tilia L.*) bitkilerinde farklı IBA konsantrasyonlarının (kontrol, 1500, 3000, 4500 ve 6000 ppm) çelikle köklendirme üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada, ıhlamur genotiplerinin çelikleri alınarak, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne ait alttan ısıtmalı ve sisleme ünitesine sahip köklendirme serasındaki perlit ortama dikilmiştir. Deneme süresince köklendirme ortamı 22-24 °C olarak tutulmuştur. Köklendirmeye bırakılan çelikler, dikimden 10 hafta sonra sökülerek köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu parametreleri incelenmiştir. Çalışmada kontrol ve 1500 ppm konsantrasyonlarında hiçbir köklenme görülmezken, 3000 ppm ve 4500 ppm IBA dozlarında çok düşük bir köklenme oranı gözlemlenmiştir. Ancak, 6000 ppm IBA konsantrasyonunda ise düşük bir köklenme oranı tespit edilmiştir. Ihlamur bitkilerinin çelikle köklendirilmesine ilişkin literatür eksikliği nedeniyle uygulanan dozların yetersiz olduğu ve ileride yapılacak çalışmalarda daha yüksek IBA dozlarının çeliklerin köklenme oranını artırabileceği belirtilmiştir (Alkaç ve Çekiç, 2021).

Ihlamurun aşılması ile alakalı çalışmalar da sınırlı olup, Bursa'da Mart – Eylül aylarında 20 gün arayla gerçekleşecek şekilde *T. tomentosa* Moench. türüne aşılama yapılmıştır. Bursa Orman Fidanlığı tarafından yarma, kalem ve yongalı göz aşısı ile aşılama yapılmıştır. Aşısı başarısının mart sonunda %57 ile en yüksek yarma kalem aşısı olduğu ve %29 ile bunu yongalı göz aşısının takip ettiği görülmektedir. Nisan ayında ise

yarma kalem aşıda aşı tutuma oranının %14 olduğu tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklıkların aşı başarısını olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir (Turna ve ark., 2020).

Ihlamurun olumsuz şartlara uyum sağlayabilen bir ağaç olması, günümüzde giderek artan hava kirliliğine dayanıklı yapıda olması, çiçeklerinin tıbbi ve aromatik bitki olarak yoğun olarak kullanımı ve önemli odun kategorilerinde değerlendirilmesi önemini arttırmıştır (Özpay, 1998). Hoş kokuları ve görünüşleri ile şehir yaşamlarında uygun kullanım alanları bulan ve çevre düzenlemelerinde yerini alan ıhlamur ağaçları biyotik, abiyotik olumsuzluklara dirençli ve olumsuz hava koşullara toleranslı olmasından dolayı insan yaşamının yoğun olduğu kentlerde çokça tercih edilmektedir (Tenche-Constantinescu ve ark., 2015).

Ihlamur ağaçları, dikimlerinin gerçekleşmesinden sonraki genç dönemlerinde gelişimleri yavaş ilerlemektedir. Fakat yaş aldıkça gelişme hızları zaman içerisinde artış göstermektedir. Ihlamur ağaçları kendileri için uygun koşulların sağlandığı sıcak dağlık kesimlerde büyük çaplı ve uzun boylara gelerek iyi bir gelişme gösterebilmektedir (Saatçioğlu, 1976). Buldukları alanın ıhlamur kökleri için en uygun olduğu toprak yapısı orta düzey olarak düşünülse de toprak yapısı genellikle hafif nemli, gevşek ve besin kaynağı yüksek topraklar da gelişimin daha iyi gerçekleştiği görülmektedir. Bataklık alanlardan yetiştirilebilmekte olan ıhlamur ağaçlarının kök sürgünlerinin daha kuvvetli olduğu belirtilmiştir (Pigott, 2012).

Ihlamur bitkisinin kullanım alanları oldukça geniş bir yelpazeye sahiptir. Genellikle yol kenarlarında, park ve bahçelerde yetiştirilmesinin yanı sıra çiçek, arıcılık ve farmakoloji içinde önemli bir yere sahiptir. Ihlamur ağaçlarında bulunan çiçeklerin, arılar için değerli bir nektar kaynağı olduğu bilinmektedir (Ivanova ve ark., 2016). Odunlarının lifli yapısı nedeniyle ip ve kaba yapımında kullanılmaktadır. Ihlamur ağaçlarının odun yapılarından birçok müzik aletleri gibi eşyalarda elde edilmektedir (Eaton ve ark., 2016). Ihlamur ağaçlarının dünyada birçok türü ve yetiştirme alanları bulunmaktadır. Hem tıbbi aromatik bitki olarak kullanılması hem dış mekân süs bitkisi olarak kullanılmasıyla tercih edilen bir bitkidir.

1.2. Dünya’da ve Türkiye’de Ihlamurun Dağılımı ve Morfolojik Özellikleri

Dünya çapında büyük önem taşıyan ve birçok bölgede yetişmekte olan ihlamur bitkisi Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’nın bir bölgesinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Yayılış yerlerine göre türlerin dağılımı yoğunlukla şu şekildedir; Anadolu, Kafkasya ve Kuzey İran bölgelerinde, *T. dasystyla*; Asya ve Sibirya bölgelerinde, *Tilia sibirica* Bayer; Avrupa bölgesinde, *Tilia platyphyllos* Scop. ve *Tilia cordata* Miller; Amerika bölgesinde, *Tilia americana* L., *Tilia caroliniana* Mill., *Tilia heterophylla* Vent. ve *Tilia mexicana* Schlect; Balkan bölgelerinde, *Tilia tomentosa* Moench,; Japonya, Kore Yarımadası ve Çin bölgelerinde ise takriben 30 tür bulunduğu bilinmektedir (Boratynska ve ark., 1991).

Farklı alanlarda kullanımı yaygın olan ihlamur ağaçları peyzaj ve yaşam alanlarımızı güzelleştirmede de kullanılmaktadır. Çeşitli ihlamur türleri Avrupa bölgesinde yoğunlukla yaşam alanlarının güzelleşmesi ve yeşile olan hasretin giderilmesi amacı ile cadde, sokak ve bulvarlarda yoğun olarak yer almaktadır. Hava kirliliğine toleransının, yüksek olması, hoş kokuları ve görünümüleriyle beğeni toplaması nedenlerinden dolayı yoğun olarak tercih edilen bitkiler arasında yerini almaktadır (Bajaj, 1991; Bengtsson, 2005; Rajendra, 2009).

Ülkemiz bulunduğu coğrafi konum nedeniyle, biyolojik çeşitliliğin zengin olduğu nadir ülkelerdendir. Türkiye sınırları içerisinde takriben %27,2 oranında ormanlık alanlar bulunmakta olup bünyesinde farklı ekosistemler bulundurmaktadır. Bu doğal çeşitlilik sebebiyle birçok canlıya ev sahipliği yapmasının yanı sıra endemik pek çok türü de bünyesinde barındırmaktadır. Türkiye coğrafi yapısının sağlamış olduğu bu avantajlı durumu ve türlerin bol miktarda olması sebebiyle birçok farklı alanda yetişmekte olan bitkilerin ve Odun Dışı Orman Ürünlerinin (ODOÜ) ülkemizde yetişmesine olanak sağlamaktadır. ODOÜ kapsamında 347 bitkininin ülke içi ve dışına ticareti gerçekleştirilmektedir ve yaklaşık %30 oranında ihraç edilmektedir. Ihlamur bitkisi de Türkiye’nin ihraç ettiği önemli bitkilerden biridir (Kurt ve ark., 2016).

Ihlamurlar birçok sektörde yararlanılan odun, kabuk ve çiçekli yapılarından fayda sağlanan orman ürünü olarak bilinmektedir. Ihlamur türleri içerisinde *T. cordata* Mill.

ve *T. plathyphyllos* Scop. çiçekleri tıbbi kullanım amacı ile en çok tercih edilen türlerdir. (Baytop, 1984).

Türkiye’de genel olarak Karadeniz, Ege, Akdeniz ve Marmara bölgelerinde yetiştirilmelerine rağmen İç Anadolu bölgesinde ılıman yerlerde yetiştirildiği görülmektedir. Ülkemizde doğal yayılış gösteren 4 önemli türü bulunmakta olan ıhlamurun, *Tilia tomentosa* türü, gümüşü ıhlamur olarak bilinmekte olup yaprak alt yüzeylerinde gümüşü beyaz yıldız tüyler bulunmaktadır. Yaprakların altında bulunan tüyler damarlar ya da damarların bir araya geldiği noktalarda tüy kümeleri şeklindedir (Yaltırık, 1967; Pigott, 2012).

Tilia cordata subsp. *cordata* türü küçük yapraklı ıhlamur olarak bilinmektedirler. Yaprak boyu 38 ile 70 mm arasında değişiklik gösterirken yaprak eni 37 ile 68 mm arasında değişiklik göstermektedir. Yaprak alt yüzeyleri bariz bir şekilde mat mavimsi ve belirli bölgelerinde demetler şeklinde kahverengimsi kırmızı tüyler az miktarda bulunmaktadır. Simozdaki çiçekler 5 ile 8 arasında değişiklik göstermektedir. Stamen yapılarının da 20 ile 32 arasında olduğu bilinmektedir (Yaltırık, 1967; Pigott, 2012).

Tilia platyphyllos Scop. türü büyük yapraklı ıhlamur olarak bilinmekte olup, yaprakları buruşuk tüysüz ve ya seyrek tüylü olarak bilinmektedirler. Çiçekleri 38 ile 46 stamenli olabilirler (Yaltırık, 1967; Pigott, 2012).

Tilia dasystyla subsp. *caucasica* Türkiye orman sınırları içerisinde bulunan türler arasında olup, yaprak boyu en uzun olabilen türdür. Yaprak boyu 66 ile 123 mm arasında yaprak eni ise 52 ila 106 mm arasında değişiklik göstermektedir. Yumurtamsı şekle sahip olup yaprak ucu dar ve uzun şekildedir. Yaprak altı yüzeyi grimsi açık yeşil tüylü ya da tüysüz şekildedir. Simozdaki çiçek sayısı 3 ila 5 arasında değişiklik göstermektedir. Stamen sayısı 39 ila 45 arasında, meyve boyutları 10-11 mm arasında kabuğu sert yapıdadır (Yaltırık, 1967; Pigott, 2012).

İhlamurlar ağaç boyları yaklaşık olarak 30 ila 40 metrelere gelebilen, dar taçlı, yaprakları dökülen ağaçlardır. İhlamurların kabuk yapıları 15-20 yaşlarına gelene kadar pürüzsüzdür. Fakat yaşları ilerledikçe kabuk yapılarında çatlamlar ve pürüzler meydana gelmeye başlamaktadır. Tomurcukları 2 ila 3 pullu, yaprakları basit, tabanı asimetrik sap kısmı uzun ve kulakçıklıdır. Yaprak kenarları tırtıklı yapıda olup basit

tüylere çeşitler arasında farklılık göstermektedir. Brakte yapraklar uzun oval şekilde 50 ila 150 mm arasında boyu olan ve 10 ila 30 mm arasında eni olan yuvarlak uçlu sap ve tüylülük durumu farklılık gösteren yapraklardır. Brakte yaprakların orta damarında bulunan simoz üzerinde farklı sayılarda çiçek bulundurmaktadır. Bu çiçekler minik, güzel kokulu ve nektarlıdır. Taç ve çanak yaprakları beşli yapıdadır. İhlamurların taç yaprakları beyazımsı sarı, soluk ya da parlak sarı şekillerde olabilmektedir. Stamenler beşli şekilde 25 ila 60 adet arasında farklılık göstermektedir. Ovaryum ve stigma beşli yapıdadır. Meyveler genellikle kalın kabuklu kapalı halde 1 ile 3 adet olarak değişiklik gösterir (Browicz, 1968; Bailey, 1961; Pigott, 2012).

Yapılan bir çalışmada, Türkiye sınırları içinde büyüyen *T. cordata* Mill., *Tilia rubra* subsp. *caucasica* (Rupr.) V. Engl., *Tilia platyphyllos* Scop. ve *Tilia tomentosa* Moench türleri normal ve brakte yaprakları incelenmiştir. Taksonların ayırt edilebilmesi için drog yöntemi kullanılmış ve histokimyasal, anatomik ve mikromorfolojik olarak ele alınmıştır. Sonuç olarak türlerin brakte yapraklarındaki varyasyonun önemli olduğu ortaya konulmuştur (Beste ve ark., 2022).

3223 sayılı Türk standartlarına uygun ihlamur ağaçları için istenilen özellikler ise şu şekildedir; İhlamur dallarında bulunan yaprakların kenarları tırtıklı, asimetric ve üzerinde tüylere bulunmaktadır. Yaprak sapının dal ile birleştiği yerde 2 kulakçık olan normal yapraktır. Brakte yapraklar üzerindeki orta damarın 3'de 1'i çiçek sapı durumunda olup çiçek tomurcuğundan çiçek oluşan brakte yaprakları açık yeşil ve ya yeşilimsi sarı renkli yapraktır. İhlamur çiçeğinin açılmamış hali kapsül halindedir. İhlamur meyveleri tozlanma ve döllenme faaliyetlerinin ardından çiçeklerde yaklaşık bir ila üç küçük, yuvarlak, sert ve kuru yapıda tohum oluşmaktadır (Yaltırık, 1988). İhlamur harici bulunan tüm maddeler yabancı madde olarak nitelendirilmektedir. İhlamur bitkisinde sadece açılmamış çiçekler yabancı madde sayılmamaktadır "(TS 3223 İhlamur Ağacı Türk Standardı).

1.3. İhlamurun Biyokimyasal Özellikleri ile İlgili Çalışmalardan Bazıları

Uçucu yağlar ve aromatik bitkiler günümüzde kullandığımız birçok üründe bulunmaktadır. Güzel kokuları ve aromaları olan bitkiler genellikle gün içinde kullanım

sağladığımız temizlik ürünleri, bakım ürünleri, parfümler, ilaçlar ve gıda ürünleri içerisinde katkı maddesi olarak bulunmaktadır. Bu tür bitkilerden kullanım sağlanırken genellikle kimyasalların aroma kaynağı olarak yarı sentetik halde ya da temel kimyasal sentez elementleri olarak işlenmektedir (Başer, 1998).

Dünyanın birçok yerinde brakte yapraklarıyla birlikte kurutulan çiçeklerinin demlenmesiyle çay olarak tüketilmektedir. İnsan sağlığına iyi geldiği bilinen ıhlamurun çay olarak tüketilmesinin yanı sıra ıhlamur bitkisinden tıbbi olarak da yararlanıldığı bilinmektedir. Ihlamur çiçeğinin yatıştırıcı, balgam söktürücü ve idrar giderici özellikleri bulunmaktadır. Ihlamurlardan genellikle tıbbi olarak faydalanılan türlerin *T. cordata* ve *T. plathyphyllos* Scop. türleri olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra diğer türlerden ve çiçeklerinden de tıbbi alanda yararlanılabilmektedir (Baytop, 1984).

Bitkilerin tedavi edici özellikleri insanlığın başlangıcından itibaren günümüze kadar süre gelmektedir. Bitki çaylarının bilimin ışığında üretilmeye başlaması talebin artması ile başlamıştır. Ülkemizde en çok talep gören bitki çayları içerisinde ıhlamur, nane, kuşburnu gibi bitkiler yer almaktadır (Akgül ve Ünver, 2001).

Ihlamur çiçeklerinin tedavi edici ve sakinleştirici etkisi olduğu bilinmekte ve ıhlamur çiçeği içerisindeki etken maddeler musilaj birleşenleri, flavonoidler ve uçucu yağ bileşenleridir. Bunun yanı sıra ıhlamur çiçeği içerisinde Tiliacin isimli faydalı glikozit yanında tanenler, karoten, C vitamini ve çeşitli asitler bulunmaktadır (Turna, 2001; Toker ve ark., 2004; Anşin ve Özkan, 2006).

Ihlamur ağaçlarının genel olarak kokulu çiçekleri (uçucu yağ içeren) olması sebebiyle gölgede kurutularak çiçekleri kullanılmaktadır. Haziran ayında çiçek açan ıhlamurlar yaz ıhlamuru, Temmuz ayında çiçekleri açan ıhlamurlar ise kış ıhlamuru olarak sınıflandırılmaktadır. Ihlamur çiçekleri genellikle Temmuz-Haziran aylarında çiçeklenmelerinin ardından 4. güne kadar çiçek yaprakları olan brakte yaprakları ile güneşin en tepede olduğu zamanlarda toplanmalıdır. Toplama işlemi gerçekleştirilirken, kırılğan yapıdaki ağaca herhangi bir zarar gelmemesine özen gösterilmelidir. Ihlamur çiçekleri toplanırken çiçekli dalların kesilmesi ya da ağacı yatırtarak toplama işlemleri ıhlamur ağacının verimini düşürmektedir. Çiçekleri brakte yaprakları ile birlikte toplanarak, gölgede elekler üzerinde kurutulur. Kurutulan

ıhlamurların kokularını ve özelliğini yitirmemesi için hava almasını engelleyen kaplarda muhafaza edilmesi gerekmektedir. Ihlamurların kurutulması ve muhafazası işlemleri layığıyla yerine getirilmediği takdirde çiçek kokusu ile renginde değişimler, yapısının bozulması ve küflenme gözlenebilmektedir. Bu gibi sebeplerden ötürü muhafaza süresinin 1 yılı aşmamış olmasına önem gösterilmesi gerekmektedir (Çiftci ve Fırat, 2006; Girgin ve Demir, 2009).

Türkiye’de ıhlamur çiçekleri üretimi diğer ODOÜ kapsamındaki bitkilerde olduğu gibi orman kanununun 37. maddesindeki şartlar uygulanmaktadır. Buna göre ıhlamur çiçeği orman köylüleri tarafından ücreti karşılığında hasadı gerçekleştirilmektedir. Ayrıca özel ıhlamur çiçeği üretimine de izin verilmektedir (Bozkurt ve ark., 1982). Ihlamur çiçeği üretimi kişiler tarafından yapılmasının yanı sıra devlet ormanlarından birçok farklı odun dışı orman bitkilerinde olduğu gibi orman kanunda yer alan 37. madde sebebiyle orman idarisi tarafından toplatılmak ya da o bölgede yaşayanların toplaması ve maddi karşılığı ödenmesi şeklinde üretilmektedir (Bozkurt ve ark., 1982).

Türk Standartları Enstitüsü 1978 yılında düzenlemiş olduğu TS/3223 numaralı kararı ile ıhlamur çiçeklerinin (*T. plathyphyllos* Scop. ve *T. cordata* Mill.) tek tip ve standart olmasına karar verilmiştir. Bu karar doğrultusunda ıhlamurlar yapraklı ıhlamur, yapraklı çiçek ıhlamur ve çiçek ıhlamur olmak üzere 3 grup altında toplanmıştır. Bu doğrultuda çiçek ıhlamur grubu en kaliteli grup olarak belirlenmiş ve %1 miktar brakte yaprak bulundurabilmektedir. Orta kalite olarak ise yapraklı çiçek ıhlamur grubu belirlenmiştir. Son olarak yapraklı ıhlamur grubunun içerisinde ise %1 miktarda çiçek bulundurabilir şeklinde olması belirlenmiştir (Bozkurt ve ark., 1982; Baytop, 1984).

Ihlamur çiçekleri eski medeniyetlerden beri halk hekimliğinde farklı konularda kullanılmaktadır. Kullanımı uygun taze kabukları alınan ıhlamurlar birkaç Avrupa ülkelerinde preparatlara dâhil edilmektedir. Yapılan araştırmada ıhlamur çiçekleri ve kabuğunun biyolojik aktivitesine göre kullanılmıştır (Toker, 1994).

Ihlamur sekonder metabolitler, uçucu ve aromatik yağlar bakımından zengin olmasından dolayı kozmetik ve tıp gibi birçok alanda kullanım alanına sahiptir (Başer ark., 1993). Yapılan araştırmalar ve çalışmalarla uçucu yağ ve aromatik maddece zengin bitkilerin saf ve etken maddelerinin belirlenmesi her anlamda fayda sağlamaktadır. Bu

tür bitkiler farmakolojik etkenleri olduğu için sağlık, kozmetik ve birçok kimyasal ürün üretiminde önemi olacaktır (Kırbağ, 2000). Geçmişten beri iyileştirici olarak kullanılan bu bitkiler temel alınmış ve ilaçlarda farmakolojik denemeler yapılarak biyolojik olarak ortaya konmuştur (Şarer, 1991; Kıvanç ve Akgül, 1986).

Ihlamur önemli bir süs bitkisi olmasının yanı sıra önemli bir tıbbi aromatik bitkidir. Ihlamurun biyokimyasal özelliklerinin yapıldığı pek çok çalışma literatürde yer bulmuştur. Yapılan bir çalışmada, Kosova'nın beş farklı bölgesinden toplanan *Tilia platyphyllos* Scop. türünde çiçek salkımları ve yapraklarda uçucu yağların özellikleri ve kimyasal bileşimlerindeki değişimler incelenmiştir. GCMS/GC-FID analizi, büyük yapraklı ıhlamur türüne ait çiçek salkımlarından elde edilen uçucu yağlarda, hidrokarbonlar dâhil 96 bileşik belirlenmiştir. Çiçekler ve yapraklardaki karşılık gelen konsantrasyonlar %41,7 ila %46,2 ve %27,5 ila %36,8 şeklinde olduğu gözlenmiştir. Yüzde oksitlenmiş seskiterpenler (%12,2-23,0 ve %21,3-31,2 çiçek ve yapraklarda) ve yağ asitleri ve türevleri (%8,0-19,6 ve çiçek ve yapraklarda %18,1-23,1), monoterpenler ise daha az miktardadır. Çalışma sonuçları, ıhlamurun çeşitli uçucu bileşik gruplarında yer aldığını ve bu türün gıda ve tıbbi kullanım için de önerilebileceğini göstermektedir (Kelmendi ve ark., 2020).

Kowalski ve ark. (2017) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, *T. cordata* çiçeklerinden toplanan ve piyasada satılan iki üründen elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir. Uçucu yağların hidro-damıtma işlemi Polonya Farmakopesi VIII'e göre gerçekleştirilmiştir. Esansiyel yağın kalitatif ve kantitatif analizi GC/MS ve GC/FID tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen numunelerdeki uçucu yağların içeriği doğal toplanan için %0,07 v/w, piyasadan temin edilen ürünler için %0,08 v/w şeklinde olduğu belirlenmiştir. Ticari örnek "F"den elde edilen uçucu yağda 71 bileşik tespit edilirken, "K" ve "W" örneklerinden hidrodistilasyonla elde edilen EO'da sırasıyla 50 ve 49 bileşik tespit edildi. GC/MS analizi, analiz edilen uçucu yağlarda oluşan ana fraksiyonun alifatik hidrokarbonlar olduğunu gözlemlenmiştir. Tüm uçucu yağlarda mevcut olan baskın bileşenlerin 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (%11-20), trikosan (%6-17), heneikosan (%3-9), nonanal (%7), oktadeka -9,12-dienoik asit (%7) olduğu tespit edilmiştir. Terpenoidler arasında linalool (%4), menton (%3), borneol (%2), mentol (%3), terpinen-4-ol (%1), p-

simen-8-ol (%2), karvon (%6), E-anetol (%8), timol (%3), E- β -damassenon (%4), metil öjenol (%4), neril aseton (%4), δ -amorfen (%2), lial (%2), karyofillen oksit (%1), humulen epoksit II (%1), epi- α -muurolol (%1), kauren (%4) olduğu belirlenmiştir (Kowalski ve ark., 2017).

Ihlamur bitkisi üzerinde gerçekleştirilmiş olan başka bir çalışmada, demleme sıcaklıkları 5 farklı derecede ayarlanarak, fenolik bileşenlerin değerleri araştırılmıştır. En temel şekilde demleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Süzgeç içindeki bitki deiyonize suya koyularak karıştırıcı kullanılarak farklı zamanlarda örnekler alınmıştır. Matematiksel modellemesi yapılırken Fick yasasına uyarlanmış hali kullanılarak katı-sıvı ekstrasyonunda polifenollerin sıvı faza geçme sürelerine bakılmıştır. Spektrometre ile gallik asit eşdeğeri mg/ml^{-1} şeklinde belirlenmiştir. Uygulama sıcaklıklarının hepsinde denge konsantrasyonları 4.5 ila 4.3 mg/ml^{-1} değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Demleme işlemi sırasında fenolik bileşenlerin büyük oranının 2100 dakika ile 57 dakika arasında sıvı faza geçtiği tespit edilmiştir. Uygulamalar içerisinde hız sabiti en düşük 60°C ve en yüksek 100°C şeklinde olduğu ve aktivasyon enerjisinin 0.549 kJ g^{-1} olduğu tespit edilmiştir (İnanç ve ark., 2017).

Fenolik madde ve toplam anitoksidan aktivitesinin tespit edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada çay olarak tüketilen bitkiler kullanılmıştır. Kuru çayları kullanılarak uygun koşul ve yöntemlerle demlenmiş ve ardından infüzyon yöntemi kullanılarak içerikleri belirlenmiştir. En yüksek oranda fenolik madde bulunduran yeşil çay olmuştur. Çalışmanın gerçekleştirildiği çaylar içerisinde en yüksek antioksidan aktivitenin ihlamur, ekinezya ve adaçayında yoğun olarak gözlemlenmiştir. Kuru ve demlendikten sonraki halleri arasında korelasyon olmadığı tespit edilmiştir (Cavlak ve ark., 2016).

Uçucu yağlar bakımından zengin olan bitkiler genellikle daha uzun süre muhafaza edilebilmeleri için depolanmadan önce kurutma işlemlerine tabi tutulmaktadırlar. Türkiye'nin Batı Karadeniz bölgesinden toplanan *T. tomentosa* Moelch. türünde 4 değişik kurutma uygulaması denenmiş ve mikrodalga ile kurutma yönteminin en iyi sonuçları verdiği gözlemlenmiştir (Tamtürk, 2013).

Ihlamur çiçek materyali üzerinde yapılmış olan diğer bir çalışmada fenolik bileşiklerin toplam miktarları kontrol edilmiştir. Araştırmalarında gallik asit ve Folin-Ciocalteu

reaktiflerini kullanarak ıhlamur çiçeklerinin toplam fenolik içeriğinin 0,27 ile 24 mg/g arasında olduğu sonucunu elde etmişlerdir (Negi ve ark., 2009).

Bir başka çalışma da ise ekolojik olarak doğal ve hava kirliliği olmayan alanlardan ve kentsel çevreden (Vilnius şehri) toplanan *Tilia cordata* çiçeğinin uçucu yağ bileşimi GC-MS ile analiz edilmiştir. Uçucu yağlar arasındaki temel farklar, oksijenli bileşiklerde (monoterpenler, seskiterpenler, alifatik vb.) ortaya çıkmaktadır. Doğal alanlardan elde edilen ıhlamur çiçeği uçucu yağları %47,3-55,0 oranında oksijenli bileşik içerirken, asfalt ve kaldırımlarda yetişen kentsel çevredeki ağaçlardan elde edilen çiçek uçucu yağlarının yalnızca %20,6-27,7 oranında oksijenli bileşik içerdiği tespit edilmiştir. Ihlamur çiçeği uçucu yağlarında tespit edilen ana bileşenler 3-p-menten, nonanal, nonanoik asit, α -kadin, heksahidrofarneasilaseton, kauren, alifatik hidrokarbonlardır ($C_{20}H_{42}$ - $C_{24}H_{50}$). Tanımlanan bileşikler (169-250), yağların %73,4-97,7'sini oluşturduğu belirlenmiştir (Chemija, 2007).

Yürütülmüş başka bir çalışmada Türkiye'de yetişen ıhlamur ağaçlarından elde edilmiş olan çiçek ve brakte yapraklarında bulunan flavonoid bileşiklerinin ters faz-HPLC metodu kullanılarak belirlenmesi sağlanmıştır. Çalışmada kullanılmış olan ıhlamur türleri üzerinde yapılan araştırmalar neticesinde *T. rubra* ve *T. argentea* türlerinin HPLC analizine göre çiçeklerde kuersetin-3,7-diramnozid, izokuersitrin+rutin, kuersitrin ile astragallin olduğu belirlenmiş olup yapraklarında ise kamferol-3,7-diramnozid olduğu tespit edilmiştir. *T. argentea* türünde ise tüm kısımlarda çeşitli seviyelerde tiliozid olduğu tespit edilmiştir (Toker ve ark., 2001).

Uçucu maddelerini incelemek amacı ile çiçekleri ve brakte yaprakları toplanmış olan *T. platyphyllos*, *T. rubra* ve *T. argentea* türlerine ait çeşitleri kullanılmıştır. Bu türler içerisinde uçucu yağda en yüksek miktarda Kaur-16-ene (%29.3) bulunduğu tespit edilmiştir. Hidrokarbon miktarı %47.5, yağ bileşeni %0.03 ve çiçeklerle birlikte brakte yaprakların alifatik miktarının %28.3 ila %37.1 arasında olduğu tespit edilmiştir (Toker ve ark., 1999).

Türkiye gerçekleştiren başka bir çalışmada, bitki materyali Isparta ilinden toplanmış ve morfolojik özellikleri belirlenmiş, HS-SPME/GC-MS yöntemi ile uçucu bileşenler yapraklarda %62 ve çiçeklerde ise %113 olarak belirlenmiştir. Ihlamur çiçeklerindeki

uçucu bileşenlerindeki etken maddeler (%26.66) (E)-2-Hexenal moleküler yapısı C_6H_{10} , (%35.52) 1-Undecyne moleküler yapısı $C_{11}H_{20}$, (%14.88) n-Hexanal $C_6H_{12}O$, (%10.11) 1-Dodecyne $C_{12}H_{22}$ molekül yapısı şeklinde belirlenmiştir. Yapraklardaki uçucu bileşenlerinde etken maddeler (%64.84) 2Hexenal moleküler yapısı $C_6H_{10}O$ ve (%22.73) 1-Decyne moleküler yapısı $C_{10}H_{18}$ şeklinde belirlenmiştir (Sedef ve ark., 2019).

1.4. İhlamurun Moleküler Özellikleri ile İlgili Çalışmalardan Bazıları

Genel olarak ıslah çalışmalarının yürütüldüğü morfolojik ve biyokimyasal belirteçlerin yanı sıra moleküler belirteçler, DNA üzerindeki varyasyonu belirlemede önemli araçlardır. Moleküler belirteçler genom üzerinde yer alan ve genotipler arasındaki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan DNA dizileridir (Yang ve ark., 2015). Moleküler belirteçlerden en çok tercih edilenler, PCR temelli moleküler belirteç yöntemleri olup, tür ve çeşitlerin özelliklerini belirlemek için uygun primerlerden yararlanarak, primerlerin bağlanma bölgeleri arasında kalan DNA bölgesinin çoğaltılması temeline dayalıdır. Kullanılan primerlerin özelliklerine ve hedef bölgelerin çeşitliliğine bağlı olarak farklı moleküler belirteç yöntemleri geliştirilmiştir (Parveen ve ark., 2016). Yaygın olarak kullanılan moleküler belirteç yöntemlerine, rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), çoğaltılmış dizi uzunluk polimorfizmi (AFLP), basit dizi tekrarları arası bölge çoğaltımı (ISSR), basit dizi tekrarı çoğaltım polimorfizmi (SSR) örnek verilebilir (Dalda-Şekerci, 2019).

En çok tercih edilen dominant özellikli, moleküler belirteç yöntemlerinden olan ISSR yöntemi, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını temel alan tekrarlanabilirliği yüksek olan yöntemlerden biri olarak öne çıkmaktadır (Parveen ve ark., 2016; Dalda-Sekerci, 2019). Yine bir başka değerli yöntem olan iPBS yöntemi ise, retrotranspozon tabanlı bir moleküler belirteç olup, ara primer bağlanma bölgesi olarak tanımlanan, genetik varyasyonu belirlemede aktif olarak kullanılan önemli moleküler belirteç yöntemlerinden biridir. Bütün ökaryot genomlarında yer alan transpozon genlerinin kullanılmasına dayalı bir yöntemdir. Transpozonlar, transpozisyon özellikleri

sayesinde genoma akışkanlık kazandırarak, genomik çeşitlilik meydana getiren diziler olarak da tanımlanabilirler (Kalender ve ark., 2011; Dalda-Sekerci, 2023). Genom içerisinde dağınık halde bulunmaları, ortak yapısal özelliklere sahip dizilerinin olması, genom çapında düzenlemelere katılmaları gibi özellikleri sebebiyle moleküler belirteç olarak kullanılabilirler (Kalender ve Schulman, 2014; Dalda-Sekerci, 2023).

Morfolojik ve biyokimyasal belirteçlerin, moleküler belirteçlerle desteklenmesi ile yapılan çalışmalar, genetik çeşitliliğin daha açık şekilde ortaya konulmasına katkı sağlamaktadır. Önemli bir süs bitkisi ve tıbbi aromatik bitki olan ıhlamurların morfolojik, biyokimyasal ve genetik özellikleri hakkında yapılmış pek çok çalışma olmasına karşın, genetik çeşitliliği belirlemek adına farklı belirteçleri bir arada kapsamlı olarak ele alındığı çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Ormanlık alanlarda, *T. cordata*'nın yüksek genetik çeşitliliği olduğu belirtilmiştir (Normann ark., 2016). Bunun nedeninin hem arılar ile tozlanabilme yeteneğinde olması hem de rüzgârla tozlanabilme yeteneğinde olmasıyla açıklanmıştır. *T. cordata*'nın uygun çevre ve uygun tozlanma ve dölleme sıcaklığına sahip olduğu ortamlarda böceklerle tozlandığı ve döllenmediği (Anderson, 1976; Pigott, 2012; Tutin vd., 1968), ancak daha sert koşullarda yetiştirildiği durumlarda ise vegetatif tomurcuklanmanın ağır bastığı belirtilmiştir (Honday ve Bossuyt, 2005; Knuth, 1908). Barker (2017) ve Logan ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmalara göre, İngiltere popülasyonlarındaki *T. cordata* ağaçlarının yaklaşık %25-%40'ı vegetatif tomurcuklanmadan kaynaklanmaktadır. Ihlamurda, çiçek nektarı üretimi ve polenin çimlenmesi için 15°C'nin üzerinde sıcaklıklar gereklidir (Pigott ark., 1980; Tal, 2006).

Yapılan moleküler çalışmalar ile *T. platyphyllos* için mikrosatelitler geliştirilmiştir (Phuekvilai ve Wolff 2013). Bu belirteçlerin birçoğunun, *T. cordata* dâhil olmak üzere diğer *Tilia* türlerinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Phuekvilai ve Wolff (2013), *T. platyphyllos* türünde amplifiye olan ancak *T. cordata* türünde amplifiye olmayan Tc918 adlı bir lokus olduğunu bildirmişlerdir ve bu nedenle tür ayırımında kullanışlı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise, ıhlamur yaprak örnekleri, iki türün İngiltere'deki çoğu alanını kapsayan 27 farklı lokasyondan toplanmış. Toplamda, iki tür ve melezden toplam 412 ıhlamur genotipi değerlendirilmiştir. Çalışmada, 13 mikrosatellit belirteci, Tc8 lokusu hariç, her iki türde de yüksek düzeyde polimorfizmi ortaya koymuştur (Logan ve ark., 2015).

Benzer bir çalışmada, Danimarka'da *T. cordata*'nın türüne ait, 12 popülasyondan seçilen 91 ağaç üzerinde SSR belirteçlerine dayalı olarak, popülasyon genetik çeşitliliği belirlenmiştir ve yakın mesafelerde genetik çeşitliliğin sınırlı olduğunu belirtmişlerdir (Lobo ve ark, 2018).

Yapılan başka bir çalışmada ise, Litvanya'daki *T. cordata* popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin ve genetik yapısını değerlendirmek amacıyla, 23 adet doğal yayılış gösteren popülasyonundan 543 bireyi, 14 genomik mikrosatellit belirteci ile değerlendirmişlerdir. *T. cordata*'nın yüksek genetik çeşitlilik düzeylerini koruduğunu (popülasyon $H_o = 0.53-0.69$, $H_e = 0.56-0.75$) tespit etmişlerdir (Danusevičius ve ark., 2021).

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak kullanılmak üzere, 1 Haziran 2022- 30 Temmuz 2022 tarihleri arasında Türkiye'nin farklı bölgelerinden 52 farklı ıhlamur genotipinin yaprak, çiçek ve brakte yaprak örnekleri toplanmıştır. Ihlamurlarda farklı bölgelere ve türlere göre çiçeklenme zamanları 2 ay kadar sürmektedir. Elde edilen ıhlamur türleri arasında 4 farklı türe ait örnekleme yapılmıştır. Toplanan türler arasında 30 adet *T. tomentosa*, 14 adet *T. cordata* subsp. *cordata*, 7 adet *T. platyphyllos* Scop, ve 1 adet *T. argentea* olduğu tespit edilmiştir. Farklı bölgelerden ve farklı türlere ait ağaçlar üzerinden yaprak ve çiçek örnekleri toplanarak muhafaza edilmiştir. Toplanan ıhlamur çiçekleri ve brakte yaprakları morfolojik özellikleri tespit edildikten sonra bir kısmı kurutularak; bir kısmı ise dondurularak, çalışmalar için laboratuvar işlemlerinin gerçekleşeceği güne kadar muhafaza edilmiştir. Ihlamur ağaçlarından ıhlamurların toplanma aşaması ve elde etmiş olduğumuz bitkisel materyallere ait görseller Şekil 2.1 ve Şekil 2.2' de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Ihlamur Ağaçlarından Bitkisel Materyalinin Toplanması.



Şekil 2.2. Ihlamur Bitkisel Materyalinin Farklı Genotiplerine Ait Görşeller.

Elde edilmiş olan bitkisel materyal Ankara, Kayseri, Konya, Karaman, Balıkesir, Afyonkarahisar, Bilecik, Bursa, Burdur, Isparta, İstanbul, Sakarya, Çankırı ve Rize illerinin farklı mevkilerinden ve farklı ağaçlarından toplanan örneklerden oluşmaktadır.

Bitkisel materyallerin toplanmış olduğu yerlerle ilgili konumlar Şekil 2.3' de sunulmuştur.



Şekil 2.3. Bitkisel Materyallerin Elde Edildiği Konumlara Ait Google Eart Uydu Görüntüsü

İstanbul'dan toplanmış olan bitki materyali için yaklaşık konum koordinatları Sultangazi için $41^{\circ} 7'30.32''$ K ve $28^{\circ}52'17.77''$ D, Sarıyer bölgesi için $41^{\circ} 9'44.03''$ K ve $29^{\circ} 2'50.71''$ D, son olarak Cebeci için $41^{\circ} 7'20.42''$ K ve $28^{\circ}52'45.14''$ D şeklindedir. Bu bölgelerden *T. platyphyllos* Scop ve *T. tomentosa* türlerine ait bitki örneği elde edilmiştir.

Bursa ilinin Gemlik ilçesinden alınmış olan bitki materyalinin alındığı yaklaşık konum koordinatları $40^{\circ}25'54.41''$ K ve $29^{\circ} 9'19.50''$ D şeklinde olup bu bölgeden *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir. Sakarya ilinden alınmış bitki materyaline ait yaklaşık konum bilgileri $40^{\circ}41'27.71''$ K ve $30^{\circ}26'12.87''$ D şeklinde olup bu bölgeden *T. cordata* subsp. *cordata* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir.

Karaman ilinden alınmış olan bitki materyalinin yaklaşık konum koordinatları $37^{\circ}10'51.79''$ K ve $33^{\circ}13'20.08''$ D şeklinde olup bu bölgeden *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir. Konya ilinden alınmış bitki materyallerini konumlarına ilişkin yaklaşık koordinatlar için Ereğli $37^{\circ}30'44.31''$ K ve $34^{\circ} 2'55.83''$ D, Karapınar için $37^{\circ}42'54.42''$ K ve $33^{\circ}32'47.75''$ D, Meram için $37^{\circ}44'28.85''$ K ve $32^{\circ}15'55.72''$ D olup

son olarak Cihanbeyli için $38^{\circ}39'24.71''\text{K}$ ve $32^{\circ}55'23.89''\text{D}$ şeklindedir. Bu lokasyonlardan *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir.

Afyonkarahisar'ın Dazkırı ilçesinden alınmış olan bitki örneklerinin yaklaşık koordinatları $37^{\circ}55'11.64''\text{K}$ ve $29^{\circ}51'36.36''\text{D}$ şeklinde olup bu bölgeden *T. tomentosa* ve *T. cordata* subsp. *cordata* türlerine ait bitki örneği elde edilmiştir. Bilecik ilinin Osmaneli ilçesinden alınmış olan bitki materyalinin yaklaşık konum koordinatları $40^{\circ}21'30.24''\text{K}$ ve $30^{\circ}0'48.24''\text{D}$ şeklinde olup *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir.

Burdur ilinden alınmış olan bitki materyallerinin yaklaşık konum koordinatları $37^{\circ}43'7.42''\text{K}$ ve $30^{\circ}16'56.25''\text{D}$ şeklinde olup bu bölgeden *T. platyphyllos* Scop türüne ait bitki örneği elde edilmiştir. Isparta ilinden alınan bitki materyallerine ilişkin yaklaşık konum koordinatları $37^{\circ}45'45.55''\text{K}$ ve $30^{\circ}33'13.34''\text{D}$ şeklinde olup bu bölgeden *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir.

Kayseri ilinin Talas, Develi, İncesu, Yılanlıdağ, Yıldırım Beyazıt ve Merkez bölgelerinden bitki materyali alınmıştır. Bitki materyallerinin alındığı yaklaşık konuma ilişkin koordinatlar; Talas için $38^{\circ}41'11.09''\text{K}$ ve $35^{\circ}33'20.50''\text{D}$, Develi için $38^{\circ}23'19.12''\text{K}$ ve $35^{\circ}29'34.14''\text{D}$, İncesu için $38^{\circ}25'41.97''\text{K}$ ve $35^{\circ}34'59.37''\text{D}$, Yılanlıdağ için $38^{\circ}42'59.82''\text{K}$ ve $35^{\circ}25'0.00''\text{D}$, Yıldırım Beyazıt için $38^{\circ}43'47.74''\text{K}$ ve $35^{\circ}32'28.18''\text{D}$, son olarak Kayseri merkez noktası için $38^{\circ}43'12.94''\text{K}$ ve $35^{\circ}28'57.48''\text{D}$ şeklindedir. Bu bölgelerden *T. tomentosa*, *T. cordata* subsp. *cordata* ve *T. platyphyllos* Scop türlerine ait bitki materyalleri elde edilmiştir.

Ankara ilinin Beşevler, Yakacık ve Polatlı mevkilerinden bitki materyalleri alınmıştır. Bu bitki materyallerin alındığı yaklaşık konuma ilişkin koordinatlar sırasıyla $39^{\circ}56'5.01''\text{K}$ ve $32^{\circ}49'52.50''\text{D}$, $40^{\circ}2'28.19''$ ve $32^{\circ}46'10.62''$ son olarak $39^{\circ}36'25.02''\text{K}$ ve $32^{\circ}5'2.43''\text{D}$ şeklindedir. Bu bölgelerden *T. argentea* L. ve *T. tomentosa* türlerine ait bitki örnekleri elde edilmiştir. Balıkesir ilinin Edremit ve Bahçelievler mevkilerinden alınmış bitki materyallerinin yaklaşık konum koordinatları sırasıyla $39^{\circ}35'40.79''\text{K}$ ve $27^{\circ}1'18.80''\text{D}$, $39^{\circ}38'8.36''\text{K}$ ve $27^{\circ}53'33.63''\text{D}$ şeklindedir. Bu bölgelerden *T. tomentosa* türüne ait bitki örnekleri elde edilmiştir.

Çankırı ilinin Tatlıpınar mevkiinden elde edilmiş olan bitki materyallerinin yaklaşık konumuna ilişkin koordinatlar 40°43'21.25"K ve 33°52'36.94"D şeklindedir. Bu bölgeden *T. cordata* subsp. *cordata* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir. Rize ilinden elde edilmiş bitki materyallerinin yaklaşık konum koordinatları 41° 1'30.11"K ve 40°31'4.17"D şeklindedir. Bu bölgeden *T. tomentosa* türüne ait bitki örneği elde edilmiştir. Bitkisel materyalin örneklendiği yerler, genotip numaraları, tür adları, yaprak yapıları ile ilgili bilgiler Tablo 2.1'de verilmiştir

Tablo 2.1. Ihlamur Genotiplerinin Tür Adı, Yaprak Yapısı ve Örnek Yeri Bilgileri

Genotip Numarası	Tür Adı	Yaprak Yapıları	Orjini
1	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Talas
2	<i>Tilia tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri - İncesu
3	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayser - Talas
4	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	Kayseri - Talas
5	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	Kayseri - Talas
6	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri- Merkez
7	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Konya - Ereğli
8	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Konya - Karapınar
9	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Karaman - Merkez
10	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Balıkesir - Bahçelievler
11	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Balıkesir - Bahçelievler
12	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Afyonkarahisar - Dazkırı
13	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Afyonkarahisar - Dazkırı
14	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri - Develi
15	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Bilecik - Osmaneli
16	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	Burdur - Merkez
17	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
18	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
19	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
20	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
21	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
22	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
23	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Yıladağ
24	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri
25	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Isparta
26	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri - Çırgalan

Tablo 2.1. Ihlamur Genotiplerinin Tür Adı, Yaprak Yapısı ve Örnek Yeri Bilgileri
(Devamı)

27	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Kayseri - Çırgalan
28	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	İstanbul - Sultan Gazi
29	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	İstanbul - Sarıyer
30	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	İstanbul - Sultan Gazi
31	<i>T. platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	İstanbul - Cebeci
32	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	İstanbul - Sultan Gazi
33	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Bursa - Gemlik
34	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Bursa - Gemlik
35	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Polatlı
36	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri - Talas
37	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Sakarya
38	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Konya - Meram
39	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Konya - Cihanbeyli
40	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Balıkesir - Edremit
41	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Beşevler
42	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Beşevler
43	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Beşevler
44	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Beşevler
45	<i>T. argentea</i> L.	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Beşevler
46	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Yakacık
47	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Çankırı - Şeyh Osman
48	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Yakacık
49	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Yakacık
50	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Ankara - Yakacık
51	<i>T. tomentosa</i>	Uzun Yapraklı	Rize
52	<i>T. tomentosa</i>	Gümüşi Yapraklı	Kayseri- Talas

2.2. Yöntem

2.2.1. Morfolojik Karakterizasyon

Morfolojik karakterizasyon için her ihlamur genotipinden yaprak, çiçek ve brakte yapraklar örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerin yaprakları ve brakte yaprakların özellikleri, çiçek salkımı özellikleri, çiçek sayıları ve çiçek yapılarına ait özellikler

tespit edilmiştir. Çiçek sayıları ve rengi, yapraklarının boy ve eni, brakte yaprak boy ve eni tespit edilmiş ve kaydedilmiştir.

2.2.2. Biyokimyasal Analizler

2.2.2.1. Uçucu Bileşenlerin Analizi

Dört farklı türe (*T. tomentosa*, *T. cordata* subsp. *cordata*, *T. platyphyllos* Scop ve *T. argentea*) ait ihlamur genotiplerinin çiçek ve brakte yaprak+çiçek örneklerinden karışım hazırlanarak 8 farklı grup oluşturulmuştur. Karışım bitkileri hazırlamada, *T. tomentosa* için 6, 7, 15, 25, 33, 38, 42, 44 ve 45 numaralı genotiplerden, *T. cordata* subsp. *cordata* 1, 3, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ve 24 numaralı olan genotiplerden, *T. platyphyllos* Scop için 4, 5, 16, 29 ve 31 numaralı genotiplerden ve *T. argentea* için 45 numaralı genotipten alınan örnekler kullanılmıştır. Ihlamur genotipleri çiçek örnekleri, türe göre değişmekle birlikte tam çiçeklenmenin olduğu tarihte hasat edilmiştir. Ihlamur çiçekleri ve brakte yaprakları basit kurutma olarak bilinen gölgede kurutma yöntemi ile steril ortamlarda kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Toplanmış olan çiçek ve brakte yaprakların sabit ağırlığa gelmesi ile öğütülerek, uçucu bileşenler gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Uçucu bileşenleri belirlemek için GC-MS Analizleri, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülmüştür. Katı faz mikroekstraksiyon yöntemine (SPME, Supelco, Almanya) dayanarak, 2 gram bitki numunesi 10 mL'lik bir şişeye yerleştirildi ve 60 °C'de 30 dakika bekletildi, ardından 75 µm ince Carbosen/Polidimetilsiloksan (CAR/ PDMS) ile kaplanmış kuvars cam elyafın uçucu bileşenleri üst boşluktan alındı. Bu işlemin ardından GC-MS'nin (Shimadzu QP2010 SE) cihazın kılcal kolonuna enjekte edilerek okuma işlemleri yapılmıştır. Uçucu bileşenlerini tanımlamak için Wiley, Nist, Tutor ve FFNSC kütüphaneleri kullanılmıştır.

2.2.2.2. Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Belirlenmesi

Ihlamur genotiplerinin toplam fenolik bileşen miktarlarını tespiti için, çiçek ve brakte yaprakları ile birlikte gölgede kurutma işlemine tabii tutulmuş olan materyal kullanılmıştır. Farklı türlere ait ihlamur genotipleri için, bir gram ihlamur çiçeği örneği

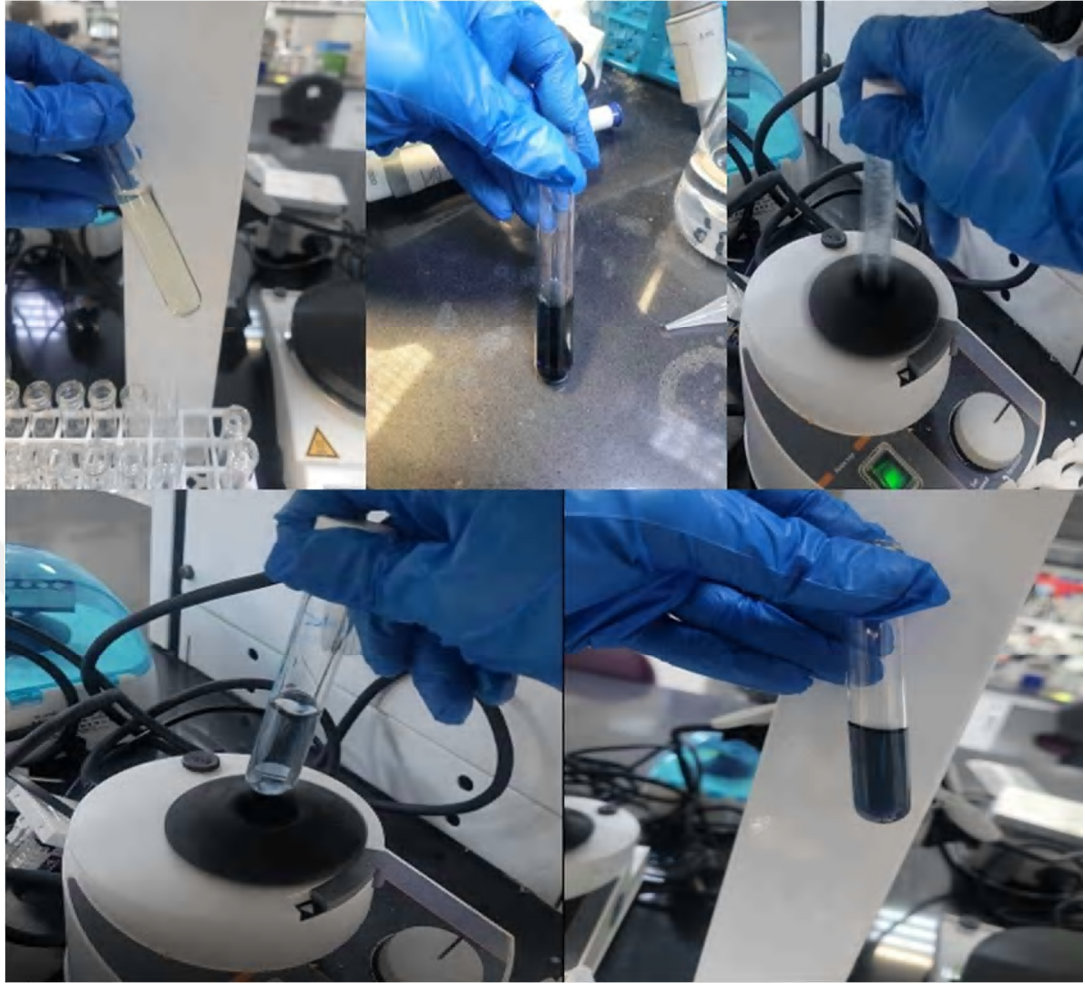
üzerine 30 ml metanol:su çözeltisi (80:20) ilave edilmiştir. Bu işlemin ardından 1 saat boyunca çalkalayıcı içerisinde çalkalanarak etken maddelerin çözeltiliye geçmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon işleminin ardından numuneler 4100 rpm devirde 10 dakika boyunca santrifüj işlemine tabii tutulmuştur (Şekil 2.5).



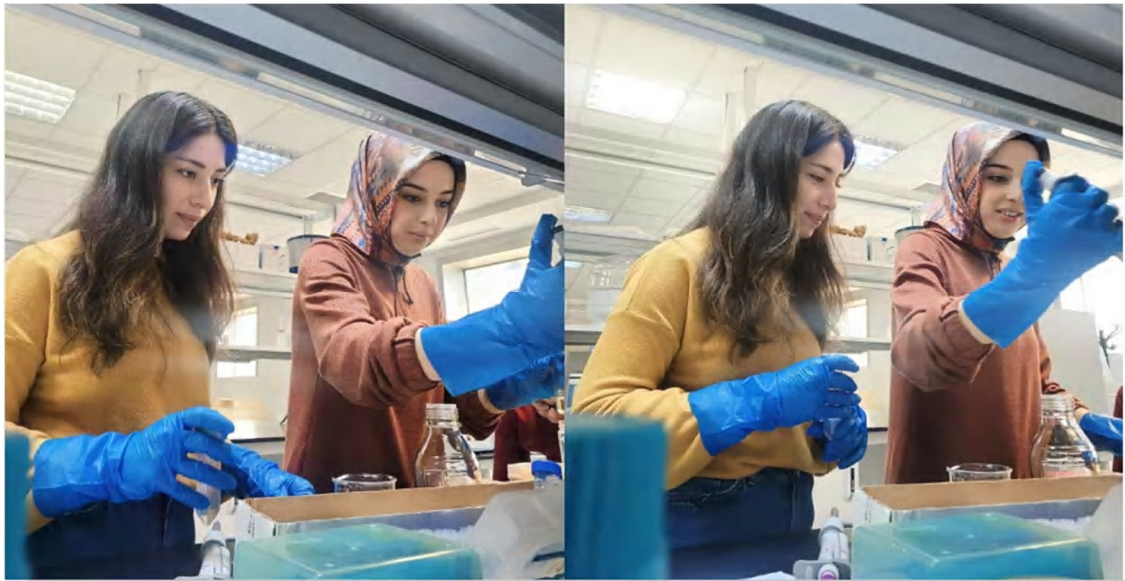
Şekil 2.5. Fenolik Madde Tayini İçin Bitkisel Numunelerin Hazırlama Aşamaları.

Bu işlemin ardından süpernatant 0.45 µm şırıngalı filtre ile süzdürme işlemi gerçekleştirilmiş ve genotiplerin toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi'nin (1965) yöntemiyle tespit edilmiştir. Bu amaçla, 200 µL ıhlamur özütü (1:1 metanol:su-80:20 ile seyreltilmiş) üzerine 1800 µL distile su ilave edilerek bu işlemin ardından içine 1 mL Folin Ciocalteu (1/10 oranında su ile seyreltilmiş) reaktifi ilave edilmiştir. Bu işlemlerin ardından numunelere 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (%2 w/v) ve 1 mL distile su ilave edilmiştir. Daha sonra vortekslenerek oda sıcaklığında ve ışığın olmadığı bir alanda 2 saat boyunca bekletilmiştir. Bu işlemlerin gerçekleştirildikleri aşamalarla ilgili görseller Şekil 2.6 ve Şekil 2.7'de verilmiştir.

Bu zaman diliminin dolmasının ardından örneklerin absorbans değerleri UV-vis spektrofotometre (C-7100, Peak Instruments, Houston, TX) yardımı sayesinde 765 nm'de tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı, gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak mg GAE/g olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizinde Kullanılan Malzemeler



Şekil 2.7. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizinin Aşamaları

2.2.2.3. Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizi

Ihlamur ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktivitesi, Brand-Williams ve arkadaşları (1997) tarafından belirlenmiş olan deneysel prosedüre uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 100 µL numune çözeltisine (1:1 metanol:su-80:20 ile seyreltilmiş) 3900 µL DPPH çözeltisi eklenerek (metanol içinde 0.1 mM) karıştırılmıştır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Antiradikal Aktivite Analizi İçin Kimyasal Hazırlığı

Vorteks yardımıyla 30 saniye karıştırılmasının ardından oda sıcaklığında karanlık bir alanda 30 dakika süresince bekletilmiştir. Karanlıkta bekletme işleminin ardından numunelerin absorbans değerleri spektrofotometre (C-7100, Peak Instruments, Houston, TX) ile 517 nm'de belirlenmiştir (Şekil 2.9 ve Şekil 2.10). Ihlamur genotiplerinin Antiradikal Aktivite oranlarının hesaplanmasında, aşağıda belirtilmiş olan denklem kullanılarak, % inhibisyon değeri belirlenmiştir.

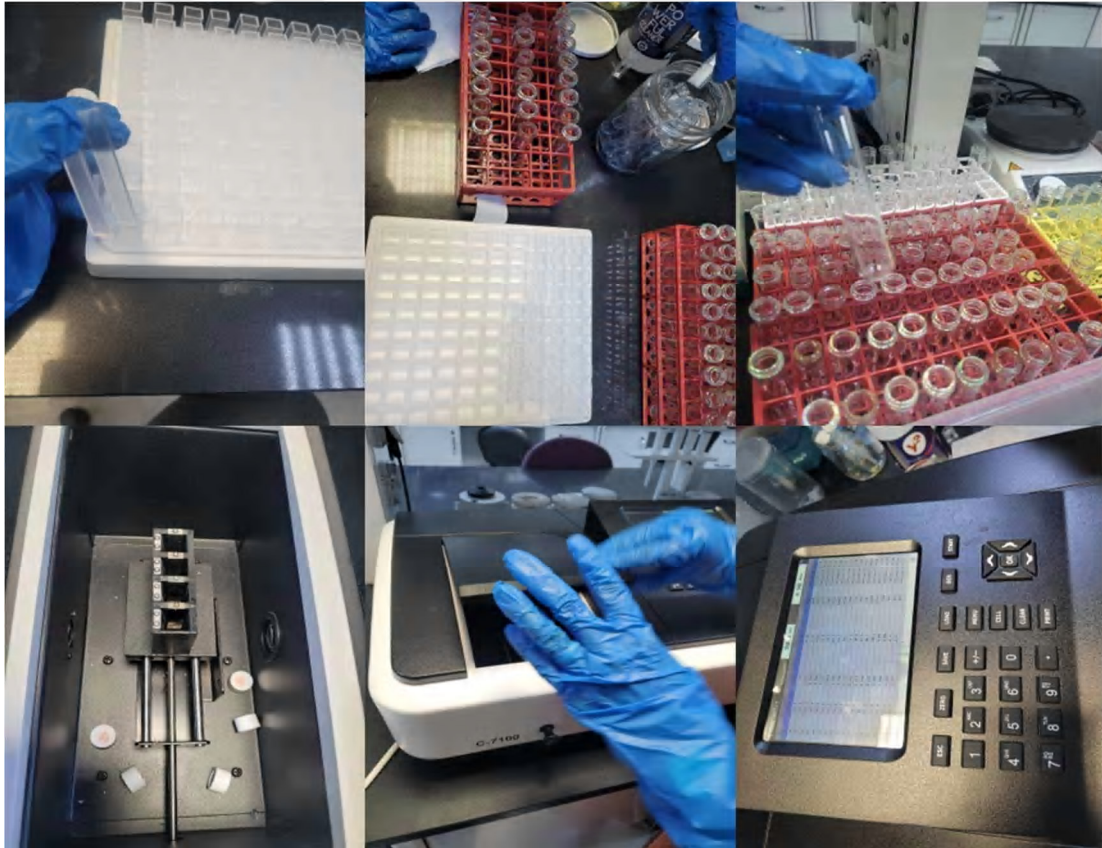
$$\% \text{ İnhibisyon} = ((A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}}) \times 100$$

A_{Kontrol} = numunenin absorbans değeridir.

$A_{\text{Örnek}}$ = numune absorbans değerini temsil eder.



Şekil 2.9. Ihlamur Genotiplerinin Antiradikal Aktivite Oranlarının Belirlenmesi.



Şekil 2.10. Antiradikal Aktivite Analizi Sırasında Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.

2.2.3. Moleküler Karakterizasyon

2.2.3.1. DNA İzolasyonu

Farklı ıhlamur türlerine ait toplamda 52 genotipin taze yapraklarından DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu çalışma için Gülşen ve ark. (2005) tarafından düzenlenmiş olan Dolye ve Dolye (1987) CTAB toplam DNA ekstraksiyon protokolü kullanılmıştır. Genomik DNA'nın eldesi için yaklaşık 30 mg genç yaprak örneği ince bir toz elde edilene kadar sıvı azot ile öğütücü havanlarla ezilerek öğütülmüş, ardından bitki örnekleri 2.0 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Tüpler içerisinde bulunan örneklerin üzerine 1.2 ml ekstraksiyon çözeltisi ilave edilerek, önceden sıcaklığı 65 °C olarak belirlenen su banyosu içerisinde yaklaşık 1 saat bekletilmiş ve her 10 dakikada bir bitki örneklerine zarar gelmeyecek şekilde çalkalanmıştır. Bu sürenin sonunda su banyosundan alınmış olan tüpler ısısının oda sıcaklığına ulaşabilmesi için 5 ila 10 dakika arasında oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüplerin içerisine 300 µl cloroform: octanol (24:1 hacim) karışımı eklenmiştir. Ardından içerisinde bitki örnekleri bulunan tüpler oda sıcaklığında bir iki dakika ters düz edilmiş ve ardından 14000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi sonucunda tüplerin içerisindeki katı madde alta çökmüş ve sıvı madde üstte kalmıştır. Bunun ardından üstte kalan sulu faz 1.5 ml'lik yeni tüplere alınmıştır. Elimizde bulunan 1.5 ml'lik tüplerde bulunan sıvı faz haldeki DNA'lardan daha iyi DNA elde etmek istediğimiz sebebiyle tüplerin içerisine 500 µl cloroform: octanol (24:1 hacim) çözeltisi ilave edilerek oda sıcaklığında 10 dakika kadar çalkama işlemi yapılmıştır. Bunun ardından tüpler içerisinde bulunan örnek 14000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Üstte kalan sıvı kısım yeniden pipetle yardımı ile alınarak 1.5 ml'lik temiz tüplere aktarılmış ve üzerine isopropanol (-20°C'de bekletilmiş) eklenmiştir. Ardından tüpler 14000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüp içerisindeki isopropanol boşaltılmış ve tüp içerisinde kalan beyaz çözeltiliye 500 µl yıkama çözeltisini (%76 EtOH, 10 mM amonyum asetat) ilave edilmiştir. Bunun üzerine oda sıcaklığında 10 dakika bekletilip 14000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj işlemi yapılmıştır. Ardından tüplerin içerisinde bulunan sıvı kısım boşaltılmış ve bu şekilde DNA'larn yıkanma işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemlerin bitiminde DNA'lar oda sıcaklığında bekletilerek

kuruması sağlanmış ve üzerine 300 ul TE (10 mM Tris, 0.1mMEDTA, pH 7.4) ilave edilerek çözünmesi sağlanmıştır. DNA'nın miktarı ve kalitesi agarose jel ile belirlenmiştir. Sonrasında çift distile deiyonize su ve TE tamponu içerisinde DNA dilüsyonları hazırlanmıştır.

2.2.3.2. PCR Analizleri

2.2.3.2.1. ISSR Moleküler Belirteçleri ile Karakterizasyon

Araştırmada 20 ISSR primeri test edilmiştir. Ihlamur genotiplerinde skorlanabilir bant üreten 9 adet primer belirlenerek çalışmalara devam edilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) için hacim 15 µl olarak hazırlanmıştır. Her 15 µl amplifikasyon çözeltisi 10 mMTris-HCl (pH 9.0), 50 mMKCl, %0,1 TritonX-100, 1.3-1.5 mM MgCl₂, her bir Dntp'den 0.33 mM, 0.67 mM primer, 1 unite Taq polimeraz ve 15 ng template DNA içermektedir. PCR sıcaklık parameteleri bir kere 94 °C'de 1 dakika 53 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 2 dakika 35 döngü ve 72 °C'de 7 dakika, bir döngü olacak şekilde, PCR reaksiyonuna tabii tutulmuştur. İşlem sonucunda her tüp için 3 µl boya ilave edilmiş, %1.5'lik agaroz jelde elektroforez içerisinde 10 mm için 5 V olacak şekilde elektrikli alanda PCR ürünleri boyutlarına göre ayrılmıştır. PCR reaksiyonlarından elde edilen ürünler agaroz jelde ve Tris borik asit EDTA (TBE) tampon solüsyonu içerisinde elektroforez yöntemiyle ayrıştırılmıştır. Daha sonra, Kodak EL Logic 200 jel görüntüleme sisteminde ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir. Her belirteç görsel olarak yok (0) veya var (1) olarak puanlandırılarak skorlama işlemine tabi tutulmuştur. Veriler, Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System (NTSYS-pc) sürüm 2.1 yazılım paketi (Exeter Software, Setauket, NY, ABD) ile analiz edilmiştir. Bireyler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için, aritmetik ortalama (UPGMA) dendrogramı ile belirlenmiş bir çift grup yöntemi oluşturmak için Dice ve Jacard benzerlik katsayıları kullanılmıştır.

2.2.3.2.2. iPBS Moleküler Belirteçleri ile Karakterizasyon

Araştırmada 40 iPBS primeri test edilmiştir. Ihlamur genotiplerinde skorlanabilir bant üreten 9 adet primer belirlenerek çalışmalara devam edilmiştir. Polimeraz Zincir

Reaksiyonu (PCR) için hacim 15 μ l olarak hazırlanmıştır. Her 15 μ l amplifikasyon çözeltisi 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, %0,1 TritonX-100, 1,3-1,5 mM MgCl₂, her bir Dntp'den 0,33 mM, 0,67 mM primer, 1 unite Taq polimeraz ve 15 ng template DNA içermektedir. PCR sıcaklık parametreleri bir kere 94 °C'de 1 dakika 48 °C'de 45 saniye, 72 °C'de 1 dakika 30 döngü ve 72 °C'de 7 dakika, bir döngü olacak şekilde, PCR reaksiyonuna tabii tutulmuştur. İşlem sonucunda her tüp için 3 μ l boya ilave edilmiş, %1,5'lik agaroz jelde elektroforez içerisinde 10 mm için 5 V olacak şekilde elektrikli alanda PCR ürünleri boyutlarına göre ayrılmıştır. PCR reaksiyonlarından elde edilen ürünler agaroz jelde ve Tris borik asit EDTA (TBE) tampon solüsyonu içerisinde elektroforez yöntemiyle ayrıştırılmıştır. Daha sonra, Kodak EL Logic 200 jel görüntüleme sisteminde ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir. Her belirteç görsel olarak yok (0) veya var (1) olarak puanlandırılarak skorlama işlemine tabii tutulmuştur. Veriler, Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System (NTSYS-pc) sürüm 2.1 yazılım paketi (Exeter Software, Setauket, NY, ABD) ile analiz edilmiştir. Bireyler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için, aritmetik ortalama (UPGMA) dendrogramı ile belirlenmiş bir çift grup yöntemi oluşturmak için Dice ve Jacard benzerlik katsayıları kullanılmıştır. İşlemin yapılış aşamasına ait görsel Şekil 2.4'de sunulmuştur.



Şekil 2.4. Genomik DNA'nın PCR ile çoğaltılması işlemlerine ait görsel

3. BÖLÜM

BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Morfolojik Özelliklere Ait Bulgular

Bitkisel materyal olarak kullanılmak üzere, 1 Haziran 2022- 30 Temmuz 2022 tarihleri arasında Türkiye'nin farklı bölgelerinden 52 farklı ıhlamur genotiplerinin yaprak, çiçek ve brakte yaprak örnekleri toplanmıştır. Morfolojik özellikleri gözlemlenmiştir. Ihlamur bitkisi genellikle çok uzun yıllar yaşamlarını sürdürebilen bitkiler olup 40 metreyi aşkın boylanabilme özelliğine sahip kışın yapraklarını döken bir bitkidir. Ihlamur ağaçlarının genellikle gövde renkleri yaşam sürelerinin uzaması ile birlikte yıllar içerisinde açık gri olan gövde ve temel dallar zamanla koyu gri – kahverengi olarak değişim göstermektedir. Ihlamur ağaçlarının yaş alması ile birlikte gövdede çatlaklı yapıların oluşumu da gözlemlenmektedir (Genç ve Güner, 2001). Farklı türlere ait genotiplerin gözlemlendiği bu çalışmada, *T. tomentosa* ve *T. platyphyllos* türlerin gövde kabuk yapılarının daha derin ve dağınık çatlaklar oluşturduğu, *T. cordata* türünün gövdesinde ise kabukların daha düzenli çatlaklar oluşturduğu gözlemlenmiştir. *T. argentea* türünde daha düzgün kabuklu bir gövde yapısı gözlemlenmiştir (Şekil 3.1). Ancak tüm türlerde, gövde kabuk yapılarının bitki yaşına bağlı olarak daha çatlaklı yapıya sahip olduğu gözlemlenmiş olup, tüm türler kırılğan ve çabuk zarar görebilen ağaç yapısına sahiptir.



Şekil 3.1. Türkiye’de Doğal Yayılış Gösteren Ihlamur Türlerinin Gövde Yapıları. a: *T. tomentosa*; b: *T. cordata* subsp. *cordata*; c: *T. platyphyllos* Scop.; d: *T. argentea* L.

İlk yıllarda ıhlamur ağaçlarının tepe tacı oval bir görünüme sahipken, daha sonraki yıllarda ise yuvarlak hatta küremsi bir yapıda olabilmektedirler. Bitkisel materyal olarak kullanılan bazı genotiplere ait ıhlamur ağaçlarının genel görünümü Şekil 3.2’de sunulmuştur. Ağaç taç yapılarının ve dallanma durumlarının türe bağlı olmaksızın, bitki yaşına göre değişim gösterdiği gözlenmiştir. Yaşlı ağaçlarda daha dağınık taç yapısı ve çok sayıda dallanma olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.2. Ihlamur Ağaçlarının Genel Görünümleri.

Ihlamur ağaçları uzun yıllar yaşamlarını sürdürebilmektedir. Yeni oluşan sürgünlerin ilk geliştikleri dönemde tüylü yapıda olduğu ve zamanla bu tüylülük durumunun kaybolduğu gözlenmiştir. Ihlamur ağaçlarının sürgün ve tomurcuklarının üzeri az miktarda tüylerle kaplı bir yapıdadır. Daha yaşlı ihlamur ağaçlarında zaman zaman dip sürgünlerinin de meydana geldiği görülmüştür. Ihlamur bitkisinin taze sürgün ve tomurcuklarına ait görsel Şekil 3.3’de sunulmuştur.



Şekil 3.3. Ihlamur Ağaçlarında Sürgün ve Tomurcuk Yapısı

Bu çalışmada farklı türlere ait ihlamur genotipleri örneklenmiş olup, *T. tomentosa*, *T. cordata* subsp. *cordata*, *T. platyphyllos* Scop, ve *T. argenta* türlerinden 52 adet ihlamur genotipi örneklenmiştir. *T. tomentosa* türü gümüşi yaprak yapısına, *T. cordata* subsp. *cordata* küçük yaprak yapısına, *T. platyphyllos* Scop büyük yaprak yapısına ve *T. argentea* gümüşi yaprak yapısına sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.4) Ihlamur türlerinin farklı genotiplerinin gerçek yapraklarına ait görseller Şekil 3.5’de sunulmuştur.



Şekil 3.4. Farklı Ihlamur Türlerinin Gerçek Yapraklarına Ait Görseller.



Şekil 3.5. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Gerçek Yapraklarına Ait Görseller.

Tilia tomentosa gümüşü yapraklı ve yaprak altı damarlarda kümeler halinde tüylülük bulundurmaktadır. *T. cordata* subsp. *cordata* küçük yapraklı ve yaprak altında mavimsi kahverengi tüyleri damarlar üzerinde kümeler halinde bulunmaktadır. *T. platyphyllos* Scop. büyük yapraklı ve yaprak altı tüylenme durumu seyrek ve az tüylü şekildedir. *Tilia argentea*'da ise gümüşü yapraklı ve yaprak altında kümeler halinde tüylenme görülmektedir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Ihlamur Türlerinin Yaprak Özellikleri.

Tür Adı	Yaprak Yüzeği	Yaprak Tüylülüğü
<i>Tilia tomentosa</i>	Gümüşi Yaprak	Damarlarda Küme Halinde
<i>Tilia cordata</i> subsp. <i>cordata</i>	Küçük Yapraklı	Mavimsi Kahverengi Tüyler Küme Halinde
<i>Tilia platyphyllos</i> Scop	Büyük Yapraklı	Seyrek ya da Az Tüylü
<i>Tilia argentea</i> L.	Gümüşi Yapraklı	Az Tüylü ya da Tüysüz

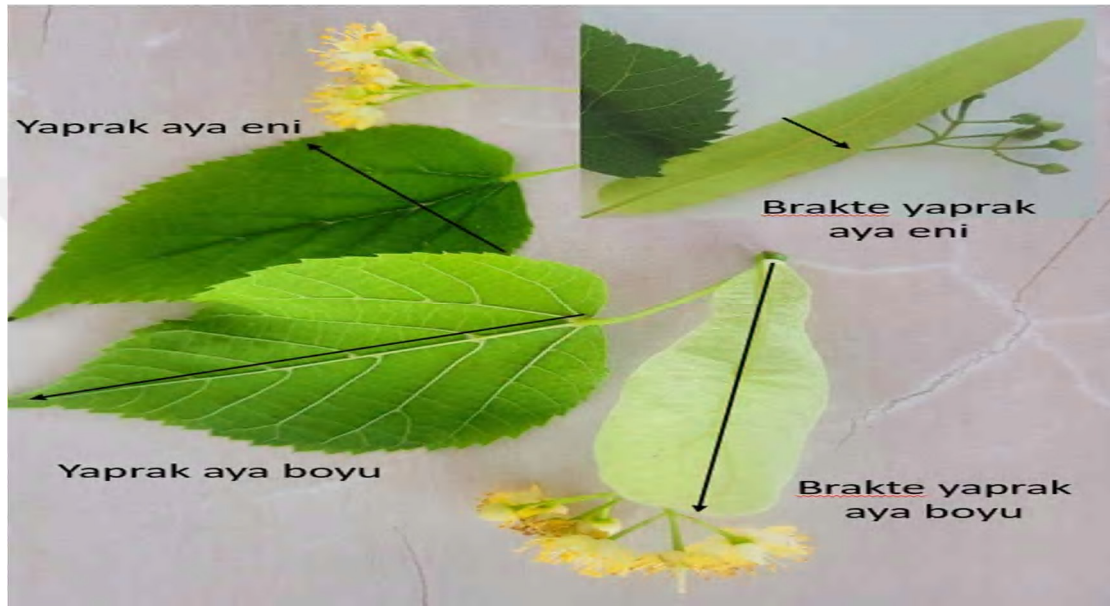
Ihlamurda gerçek yaprakların yanı sıra çiçek salkımlarının hemen yanından çıkan ve genellikle tıbbi özelliğinden de faydalanılan brakte yapraklar mevcuttur. İnce uzun yapıda ve açık yeşil renkte bulunan brakte yapraklar ihlamurun kendine has hoş görünümüne katkı sağlar. Ihlamur brakte yapraklarına ait görsel Şekil 3.6'da sunulmuştur.



Şekil 3.6. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Brakte Yapraklarına Ait Görsel.

Farklı türlere ait 52 ihlamur genotipinin gerçek yaprak ve brakte yaprak morfolojik özelliklerine ait ölçümler yapılmıştır. Ihlamur bitkisinin gerçek yaprak uzunluğu, gerçek yaprak eni, brakte yaprak uzunluğu ve brakte yaprak eni ölçülmüştür. Gerçek yaprak eni en düşük 32,70 mm ve en yüksek 157 mm olarak ölçülmüştür. Yaprak boyu en düşük

53,41 mm ve en yüksek 180,80 mm olarak ölçülmüştür. Brakte yaprak eni en düşük 10,10 mm ve en yüksek 30,55 mm olarak ölçülmüştür. Son olarak brakte yaprak boyu en düşük 35,30 mm ve en yüksek 122,82 mm olarak tespit edilmiştir. Yapılan ölçümler neticesinde, gerçek yaprak eni ortalaması 67,20 mm, gerçek yaprak boyu ortalaması 77,56 mm, brakte yaprak eni ortalaması 16,99 mm ve brakte yaprak boyu ortalaması 79,40 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.7 Tablo 3.2).



Şekil 3.7. Ihlamur Yapraklarında ve Brakte Yapraklarında Ölçülen Noktalar.

Tablo 3.2. Ihlamur Gerçek ve Brakte Yapraklarının En ve Boy Ölçüm Sonuçları.

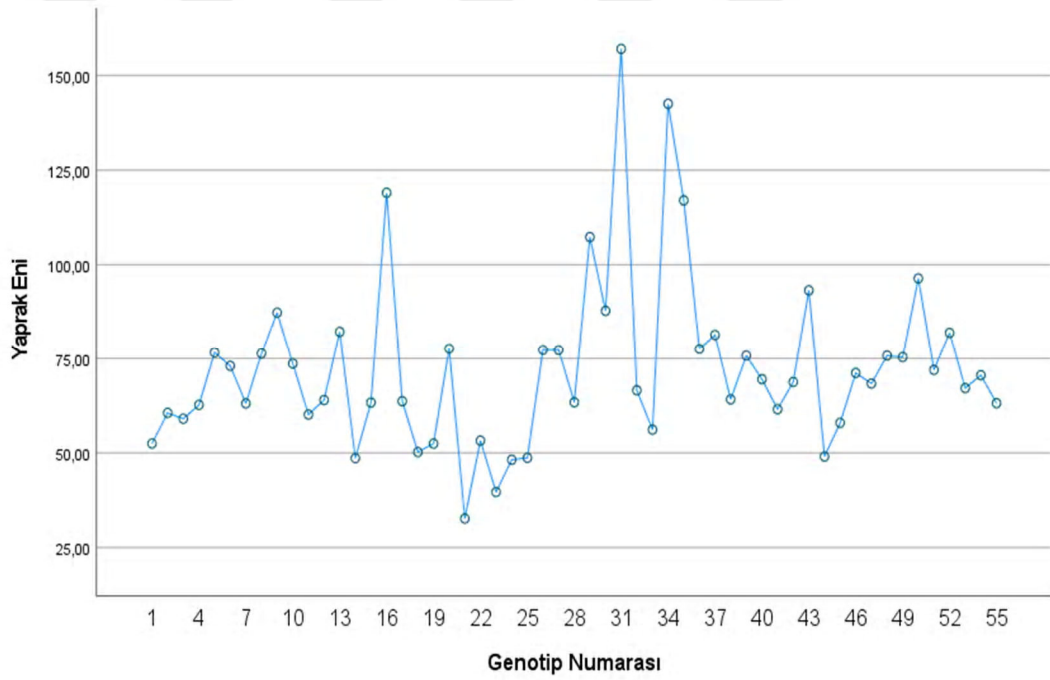
Genotip No	Yaprak Eni (mm)	Yaprak Boyu (mm)	Brakte Yaprak Eni (mm)	Brakte Yaprak Boyu (mm)
1	52,54 r-t	77,26 i-p	16,94 f-p	82,27 h-l
2	60,62 n-s	65,35 p-t	21,28 b-i	122,82 a
3	59,08 o-s	67,88 m-t	14,13 l-s	58,79 o-q
4	62,73 l-r	74,28 k-q	17,95 d-p	94,69 d-h
5	76,64 f-k	97,08 d-g	19,47 c-l	113,56 a-c
6	73,08 h-n	77,89 i-p	29,29 a	95,85 d-h
7	63,14 i-r	86,22 e-l	17,87 d-p	88,92 d-i
8	76,40 f-l	81,79 g-o	22,95 b-e	68,62 l-q
9	73,70 g-n	76,84 i-q	25,49 ab	113,71 a-c
10	60,19 n-s	68,78 m-t	15,17 j-s	65,53 m-q

Tablo 3.2. Ihlamur Gerçek ve Brakte Yapraklarının En ve Boy Ölçüm Sonuçları (Devamı)

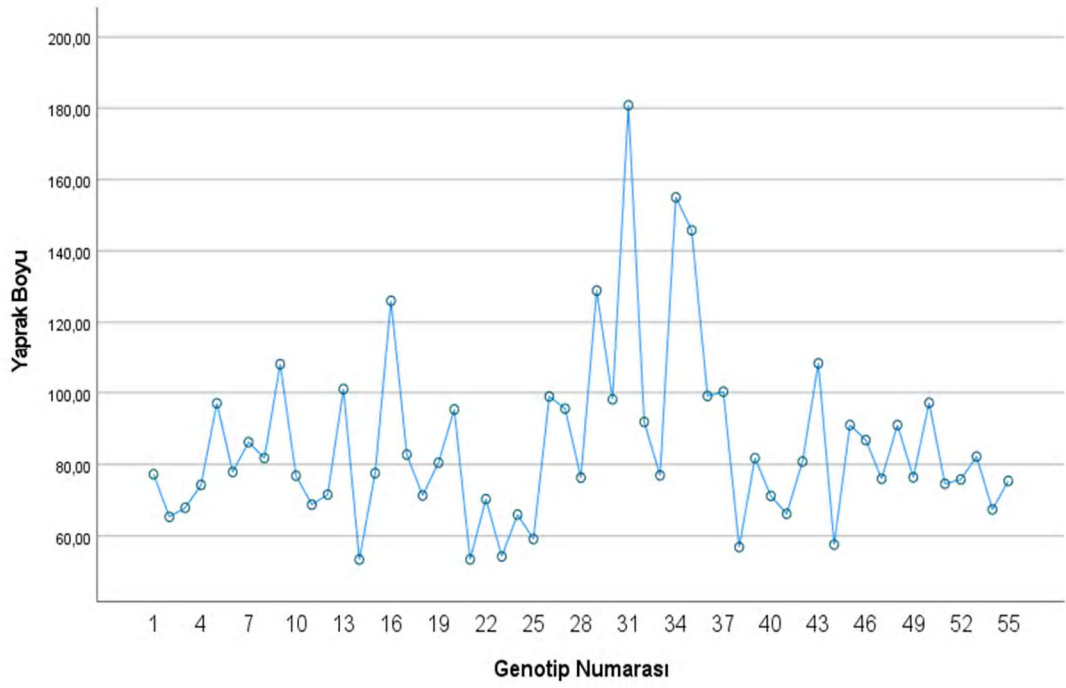
11	64,02 i-r	71,58 k-r	17,41 e-p	62,74 n-q
12	82,26 d-h	101,08 de	30,56 a	94,00 d-h
13	48,66 r-t	53,41 t	15,99 h-s	66,52 m-q
14	63,36 k-r	77,56 i-p	18,18 d-o	85,70 f-j
15	119,04 b	126,04 c	15,32 j-s	87,85 e-i
16	63,72 i-r	82,74 f-m	16,28 g-r	93,56 d-h
17	50,29 r-t	71,33 l-r	13,47 m-s	65,39 m-q
18	52,51 r-t	80,47 g-p	11,51 p-s	76,01 i-n
19	77,72 f-i	95,35 d-h	16,35 g-q	69,86 k-p
20	32,71 u	53,47 t	10,96 q-s	54,23 q
21	53,31 q-t	70,31 l-s	10,30 s	60,01 o-q
22	39,72 tu	54,31 st	14,89 k-s	65,63 m-q
23	48,25 st	65,98 o-t	14,74 l-s	75,72 i-n
24	48,75 r-t	59,16 q-t	12,33 o-s	58,31 pq
25	77,38 f-j	98,98 de	18,64 d-n	101,97 b-e
26	77,34 f-j	95,59 d-h	17,24 e-p	80,11 h-m
27	63,44 i-r	76,29 i-q	21,66 b-h	62,72 n-q
28	107,33 bc	128,89 c	18,11 d-p	96,50 c-h
29	157,00 a	180,80 a	20,67 b-k	96,32 d-h
30	66,59 i-q	91,86 d-i	12,89 n-s	71,01 j-p
31	56,20 p-s	76,94 i-q	14,13 l-s	71,12 j-p
32	142,50 a	155,00 b	17,33 e-p	86,63 e-j
33	117,00 b	145,80 v	16,06 h-r	113,49 a-c
34	77,63 f-i	99,13 de	16,99 f-p	104,11 b-d
35	81,44 e-h	100,32 de	23,35 b-d	94,79 d-h
36	64,20 i-r	56,90 r-t	17,66 d-p	70,77 j-p
37	75,80 f-m	81,75 g-p	15,68 i-s	68,23 l-q
38	69,54 h-p	71,20 k-r	17,20 e-p	83,60 g-l
39	61,60 m-s	66,20 n-t	13,40 m-s	74,00 i-o
40	68,80 h-p	80,80 g-p	13,80 l-s	98,60 c-g
41	93,25 c-e	108,25 d	22,40 b-f	99,80 b-f
42	49,10 r-t	57,60 r-t	10,10 s	35,20 r
43	58,00 p-s	91,00 e-j	18,80 d-m	70,80 j-p
44	71,20 h-p	86,80 e-k	19,40 c-l	54,40 o-q
45	68,40 h-p	76,00 i-q	19,60 b-l	59,20 o-q
46	75,80 f-m	91,00 e-j	21,80 b-g	84,00 g-k
47	75,40 f-m	76,40 i-q	15,60 i-s	86,40 f-j

Tablo 3.2. Ihlamur Gerçek ve Brakte Yapraklarının En ve Boy Ölçüm Sonuçları (Devamı)

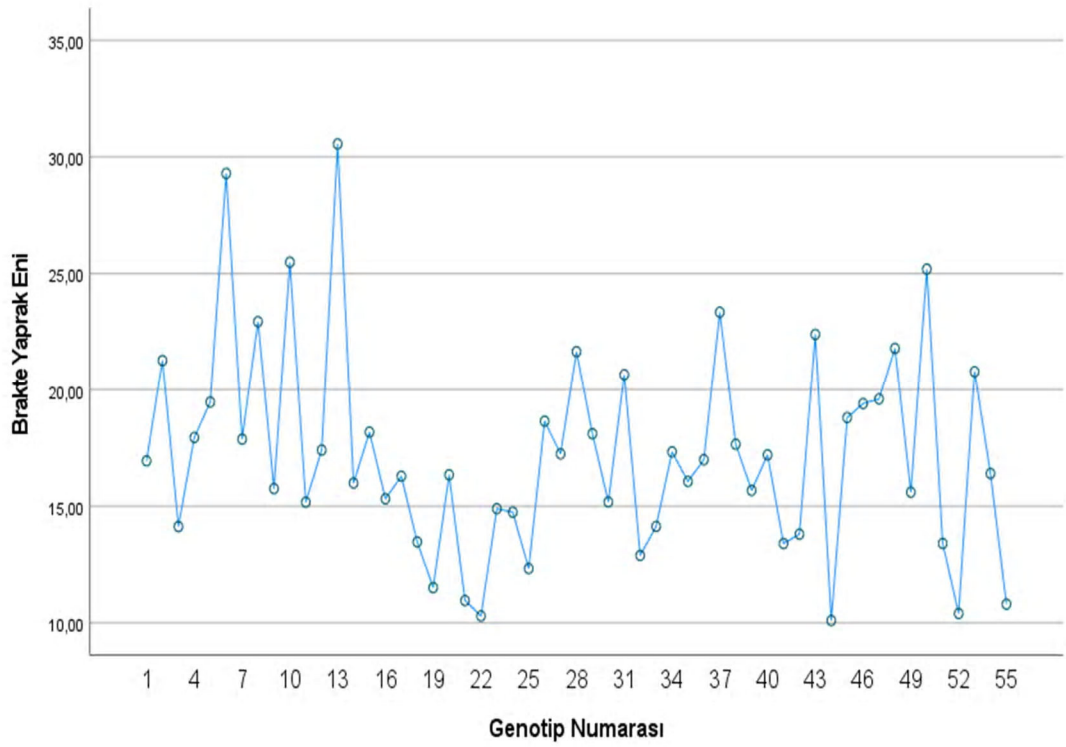
48	96,40 cd	97,20 d-g	25,20 a-c	88,40 e-i
49	72,00 h-o	74,60 k-q	13,40 m-s	79,40 h-m
50	82,00 e-h	75,80 i-q	10,40 rs	68,60 l-q
51	67,20 i-p	82,20 f-m	20,80 b-j	114,40 ab
52	63,20 i-r	75,40 j-q	10,80 q-s	63,60 n-q
Maksimum	157,00	180,80	30,55	122,82
Minimum	32,70	53,41	10,10	35,20
Ortalama	67,20	77,56	16,99	79,40
Standart Sapma	23,10	25,05	4,56	18,68
Varyans	533,78	627,84	20,80	348,98



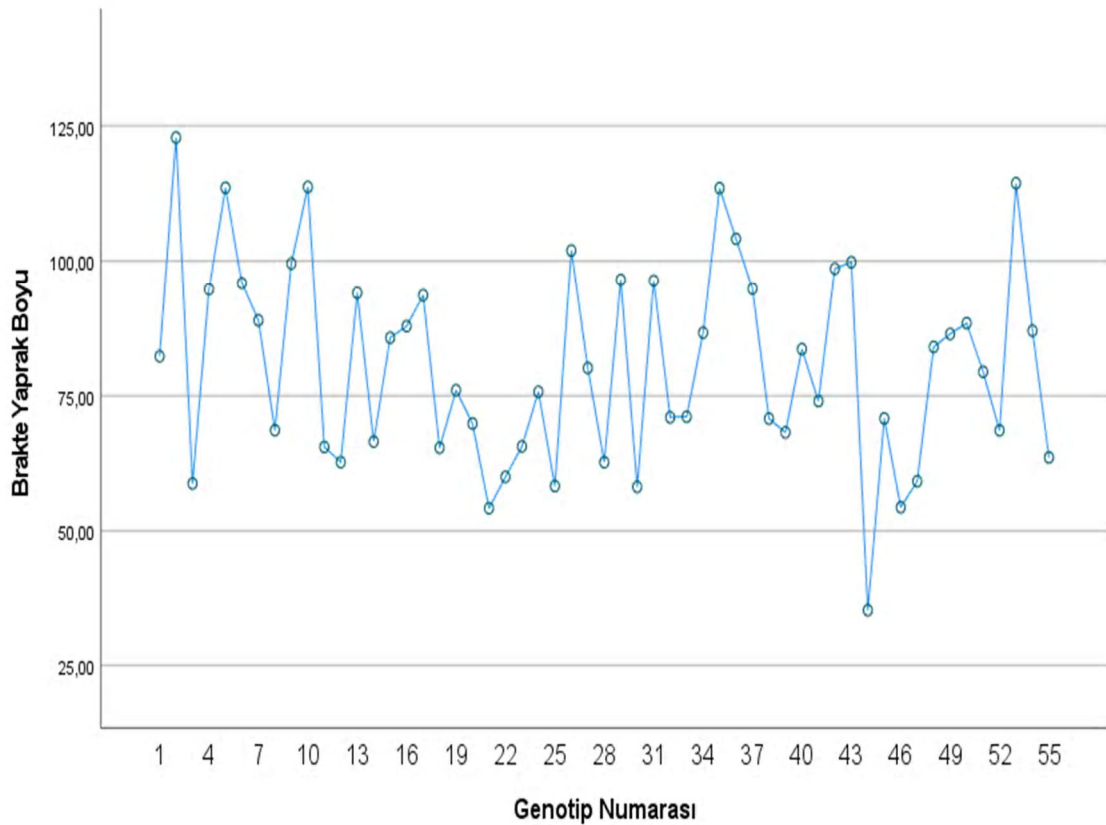
Şekil 3.8. Ihlamur Genotiplerinin Gerçek Yaprak Eni Ortalamalarının Dağılımını.



Şekil 3.9. Ihlamur Genotiplerinin Gerçek Yaprak Boyu Ortalamalarının Dağılımını.



Şekil 3.10. Ihlamur Genotiplerinin Brakte Yaprak Eni Ortalamalarının Dağılımını.



Şekil 3.11. Ihlamur Genotiplerinin Brakte Yaprak Boyu Ortalamalarının Dağılımını.

Ihlamur çiçek yapısı hoş görünümü ve güzel kokuları ile tercih edilmelerinin yanı sıra hermafrodit yapıda olmalarıyla da dikkat çekmektedir. Yapıları sebebi ile arılar, böcekler ve rüzgâr yardımı ile tozlanma sağlanmaktadır. Ihlamur çiçekleri genellikle sarı ve sarı-turuncu renklerde salkım şeklinde bulunmaktadır (Pawlikowski, 2010; Weryszko-Chmielewska ve Sadowska, 2010; Pigott, 2012). Her bir salkım üzerinde yaklaşık 1 ila 12 çiçek bulunmaktadır. *T. platyphyllos* çiçekleri genellikle haziran ortalarında *T. cordata* çiçekleri ise *T. platyphyllos*'dan yaklaşık 15 gün sonra açılmaktadır. Ihlamur çiçeklerinin hasat edilmesi için en uygun zaman çiçek açılma tarihinin takip eden ilk 10 gündür. Çiçekleri gece ve gündüz açık halde bulunmamaktadır. Ihlamurda brakte yapraklar çiçek oluşum zamanlarında çiçekle birlikte meydana gelmekte olup, çiçek sapları brakte yapraklarının orta damarının devamı şeklinde meydana gelmektedir. Geçek yaprak brakte yaprak ve ihlamur çiçeklerinin birlikte görünümü Şekil 3.12'de görülmektedir.



Şekil 3.12. Farklı Ihlamur Genotiplerinin Çiçeklilerine Ait Görseller.

Farklı ıhlamur genotiplerinin çiçek özellikleri incelenmiştir. Ihlamur çiçekleri salkım şeklinde brakte yaprağın orta damarının uzantısı halinde oluşmaktadır. Yapılan ölçümler sonucunda çiçek salkımında en az çiçek sayısının 1 adet olduğu ve çiçek salkımı üzerinde bulunan en yüksek çiçek sayısının ise 12 olduğu gözlemlenmiştir. Çiçek sayılarının genellikle çiçek salkımı üzerinde 1, 2, 3, 3-2, 3-3, 3-3-1, 3-3-3, 4-3-3-2 şekillerde sıralandığı gözlemlenmiştir. Çiçek salkımı üzerinde çiçeklerin sıralanma durumuna ve sayısına ait görsel Şekil 3.13’de sunulmuştur. Her genotipte farklı sayıda çiçeklere sahip olan çiçek salkımları bulunmaktadır. Bu nedenle her genotipten 10’ar çiçek salkımı sayılmış ve tüm genotipler için ortalama çiçek sayısı belirlenmiştir. Farklı ıhlamur genotiplerinin ortalama çiçek sayılarının 7,25 adet olarak tespit edilmiş olup, standart sapma değerinin 2,49 olduğu ve varyans değerinin 6,21 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.14). Yapılmış olan bir başka çalışmada çiçek salkımlarında en az 2 en çok 5 olmak üzere ortalama 3 adet çiçek bulunduğu tespit edilmiştir (Kaya ve ark., 1996). Çalışmalarda belirlenen çiçek sayıları arasında farklılık olduğu önceki çalışmalarda da belirlenmiştir. Bu çalışmada, brakte uzunluğu 40.2-130.0 mm arasında değişirken, ortalama olarak 80.07 mm ölçülmüştür. Brakte genişliği ise 10.0-20.5 mm arasında değişmiş ve ortalama olarak 10.67 mm olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan bir çalışmada brakte boyutları geniş bir aralıkta değişim göstermiştir (40.89-150.16 mm).

Ancak bu çalışmada daha yüksek brakte eni değerleri kaydedilmiştir (Toker ve ark., 1997). Diğer bir çalışmada brakte boyutlarına ilişkin benzer sonuçlar elde edilmiştir. Boyutlar genellikle 80.0-120.8 mm arasında değişirken, ortalaması ise 100,02 mm'dir. Bu araştırma, Kaya ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmayla uyumlu sonuçlar vermektedir.



Şekil 3.13. Farklı Genotiplerin Çiçek Salkımındaki Çiçek Sayılarına Ait Görseller.



Şekil 3.14. Bazı Ihlamur Genotiplerinin Çiçeklerine Ait Görsel.

3.2. Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular

3.2.1. Uçucu Bileşenlere Ait Bulgular

Ihlamur genotiplerinin uçucu bileşenlerini belirlemek için, 4 farklı türe ait 52 genotipin kurutulmuş çiçek örnekleri kullanılmıştır. Her tür için karışım (bulk) hazırlanarak uçucu bileşenleri tespit edilmiştir. Her 4 türde sadece çiçeklerden oluşan ve çiçek ile brakte yaprakların bulunduğu karışımlar oluşturularak 8 grup üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. Bu guruplar *T. tomentosa*, *T. cordata* subsp. *cordata*, *T. platyphyllos* Scop. ve *T. argentea* için sadece çiçek ve çiçek ile brakte yaprakların birlikte olduğu gruplardır. Ihlamur uçucu bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Bu okumalar doğrultusunda ihlamur türlerinin uçucu bileşenleri %58-82 arasında tanımlanmıştır (Tablo 3.3).

Tüm türler için, en yüksek oranlarda olduğu tespit edilen uçucu bileşenlerinin, N-benzylidene-dimethylammonium chloride, Furan, 2-pentyl-, 1-Decyne, Benzenemethanol, Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, Benzeneethanol, m-

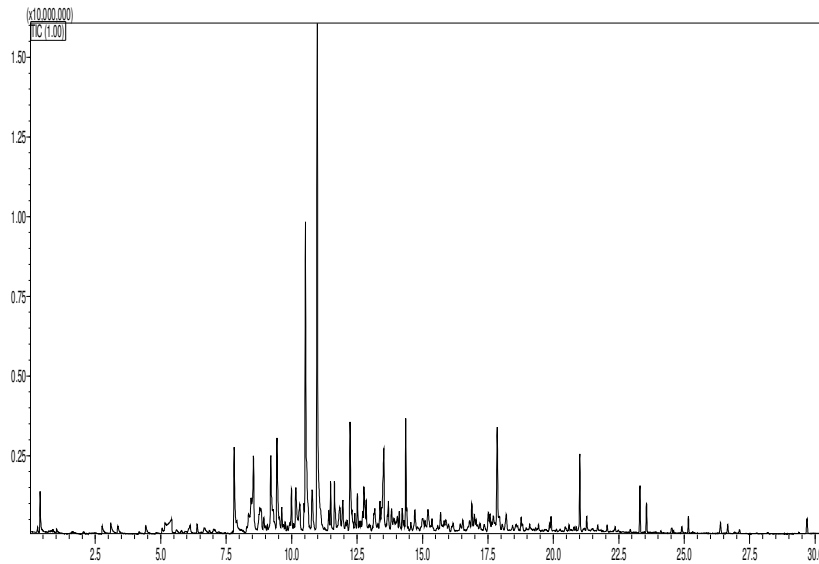
Cymen-8-ol, Nonanoic acid ve (3E,5E)-3,5-octadien-2-one olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşenler içinde ise yüksek oranda bulunan uçucu bileşenin Benzeneethanol olduğu belirlenmiştir. Benzeneethanol oranları *T. tomentosa*'nın sadece çiçekleri için % 28,23, çiçek ve brakte yaprak karışımı için % 20,44, *T. cordata* subsp. *cordata*'nın çiçekleri için % 17,34, çiçek ve brakte yaprak karışımı için %8,78, *T. platyphyllos* Scop çiçekleri için % 32,8, çiçek ve brakte yaprakları için % 20,15 ve son olarak *T. argentea*'nın çiçekleri için %32,39 ve çiçeklerle birlikte brakte yaprakları için % 22,36 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bunu takiben en yüksek uçucu bileşen oranına sahip olan Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- için en yüksek değer *T. cordata* subsp. *cordata*'nın sadece çiçekleri için %11,51 olduğu tespit edilmiştir. Benzenemethanol için ise en yüksek değer *T. platyphyllos* Scop.'un sadece çiçekleri için % 6,09 oranında olduğu belirlenmiştir. Nonanoic acid için en yüksek değer *T. cordata* subsp. *cordata*'nın çiçek ve brakte yaprak karışımı için % 6,01 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bunu takiben m-Cymen-8-ol için en yüksek oranın % 3,77 olduğu, 1-Decyne (CAS) bileşeni için en yüksek oranın % 3,41 olduğu ve Furan, 2-pentyl- bileşeni için en yüksek oranın % 3,52 olarak belirlendiği bu üç bileşenin de *T. cordata* subsp. *cordata*'nın çiçekleri içinden elde edilen sonuçlar olduğu tespit edilmiştir. Ölçümler sonucu en yüksek uçucu bileşenler arasında bulunanlardan, N-benzylidene- için en yüksek oranın % 3,49 olduğu ve bunun *Tilia platyphyllos* Scop.'un çiçeklerinden elde edilen uçucu bileşen olduğu tespit edilmiştir.

Farklı ihlamur türlerine ait uçucu bileşenler genel olarak değerlendirildiğinde, tüm türlerde uçucu bileşenlerin benzer olduğu, ancak uçucu bileşenlerin oranlarının türlere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Ihlamur uçucu bileşenleri içinde en yüksek orana sahip olan bileşenlerin Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- ve Benzeneethanol olduğu tespit edilmiştir.

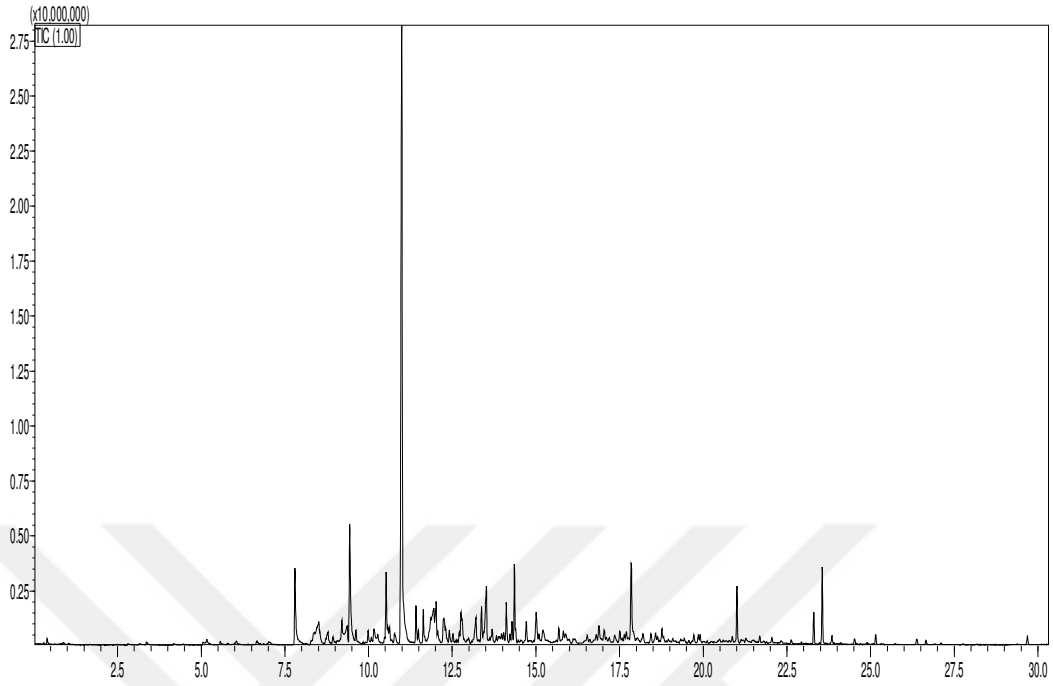
T. cordata subsp. *cordata*, *T. platyphyllos* Scop, *T. tomentosa* ve *T. argentea* türünün çiçeklerinden gaz kromatografisi ile elde edilen kromatogram görüntüleri Şekil 3.15, Şekil 3.16, Şekil 3.17, Şekil 3.18, Şekil 3.19, Şekil 3.20, Şekil 20.21 ve Şekil 3.22'de sunulmuştur.

Elde edilen araştırma bulguları, daha önce yapılmış çalışmalarla uyum içerisindedir. Toker ve ark. (1999)'nın yaptığı bir çalışmada Türkiye'den örneklenen ıhlamur genotiplerinde uçucu bileşenlerinin brakte yapraklarda, heksadekanoik asit, 2-fenetil benzoat, β -ionon, geranil aseton, farnesil aseton ve heksahidrofarnezil aseton ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, Kowalski ve ark. (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada, GC/MS analizi ile uçucu yağlarda bulunan baskın bileşenlerin, 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (11-20%), trikozan (6-17%), heneikozan (3-9%), nonanal (7%), oktadeka-9,12-dienoik asit (7%) olduğu belirtilmiştir. Terpenoidler arasında, linalool (4%), menton (3%), bornil (2%), mentol (3%), terpinen-4-ol (1%), p-simen-8-ol (2%), karvon (6%), E-anetol (8%), timol (3%), E- β -damaskenon (4%), metil eugenol (4%), neril aseton (4%), δ -amorfen (2%), lillial (2%), karyofilene oksit (1%), humulen epoksi II (1%), epi- α -muurolol (1%), kauren (4%) tespit edildiği belirtilmiştir.

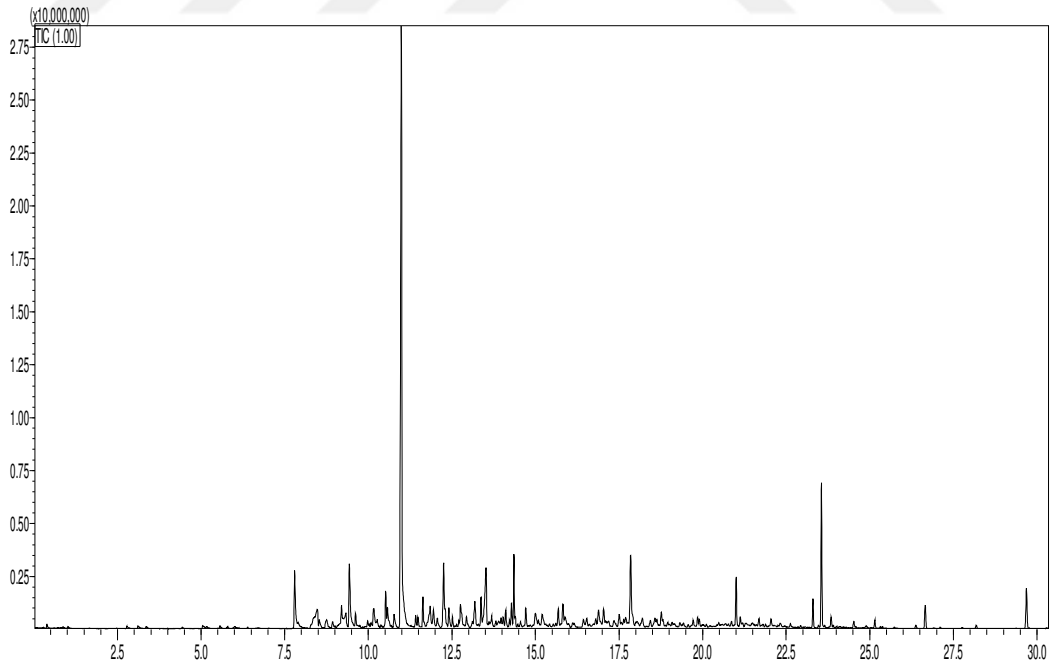
Başka bir çalışmada, *T. cordata* türünde uçucu yağın kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için GC-MS ve GC-FID kullanılmış ve başlıca bileşiklerin trikozan (5.7-20.7%), pentakozan (3.0-6.1%) ve heneikozan (1.1-6.1%), ayrıca asetofenon (3.5-6.9%), nonanal (1.3-7.8%) ve nonanoik asit (3.9-18.2%) olduğu belirtilmiştir (Kosakowska ve ark., 2015).



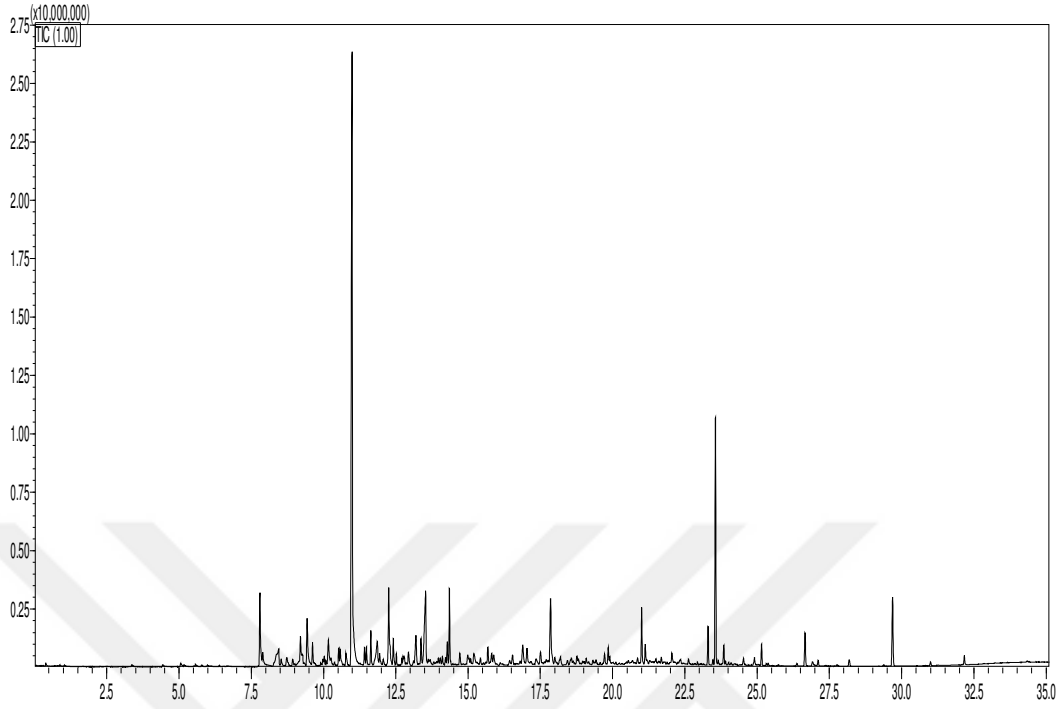
Şekil 3.15. *Tilia cordata* subsp. *cordata* Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



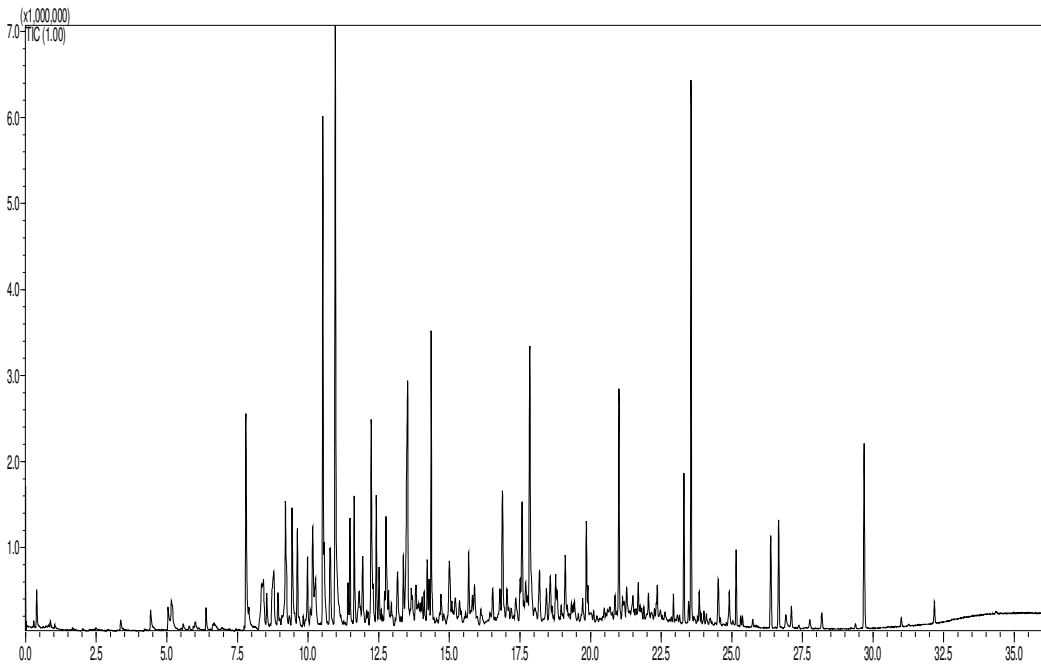
Şekil 3.16. *Tilia platyphyllos* Scop Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



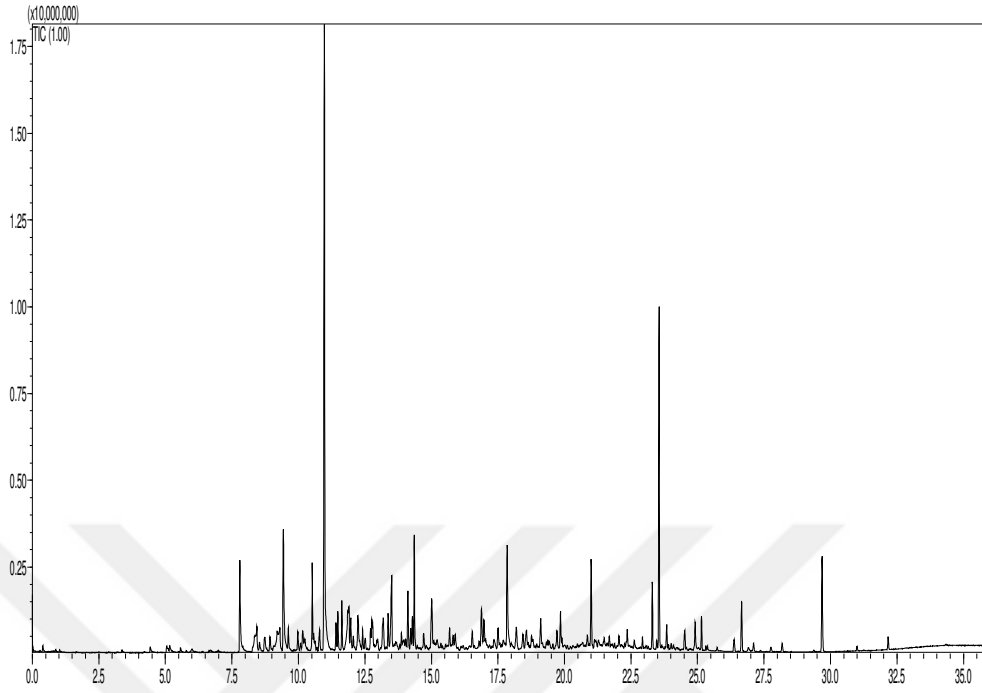
Şekil 3.17. *Tilia tomentosa* Çiçek Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



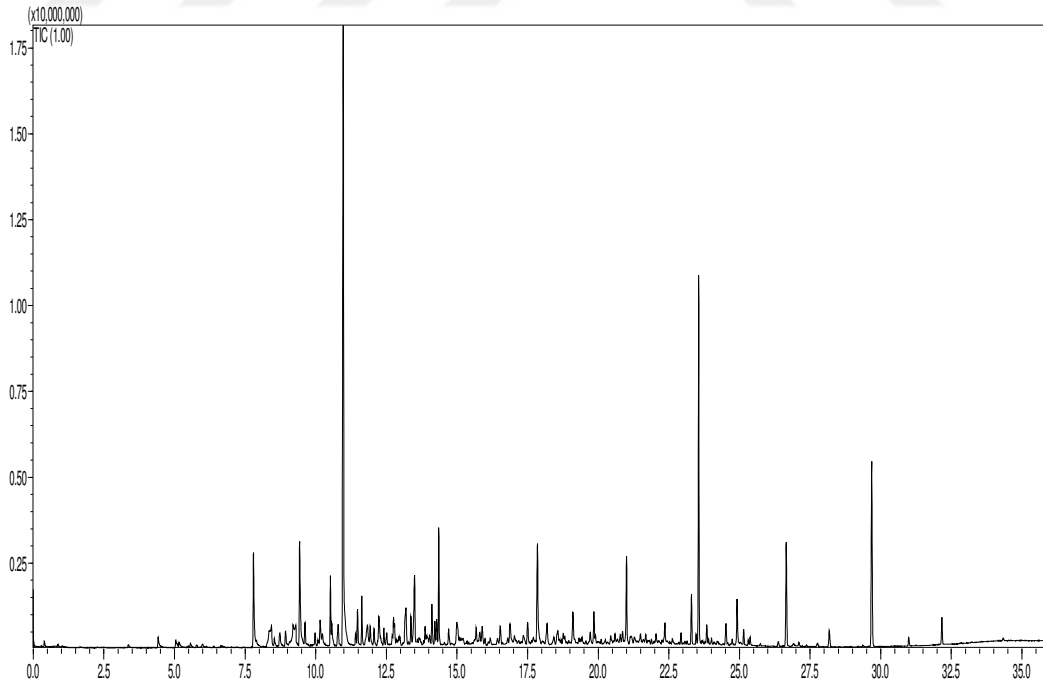
Şekil 3.18. *Tilia argentea* Türünün Çiçeklerinden Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



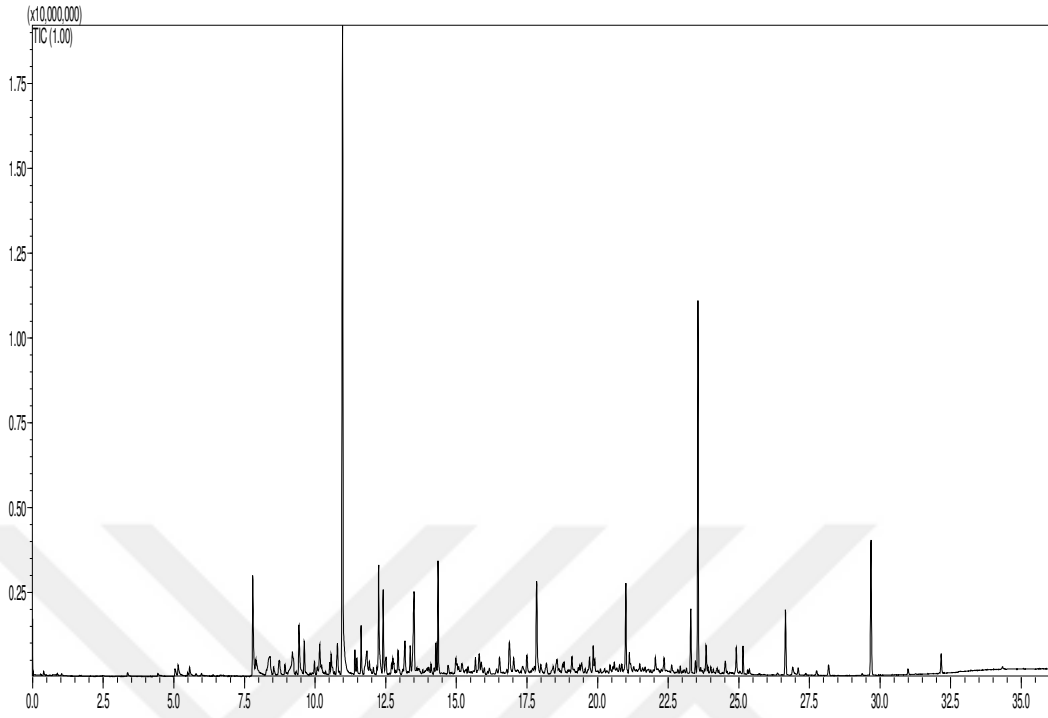
Şekil 3.19. *Tilia cordata* subsp. *cordata* Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



Şekil 3.20. *Tilia platyphyllos* Scop. Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



Şekil 3.21. *Tilia tomentosa* Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.



Şekil 3.22. *Tilia argentea* Türünün Çiçek ve Brakte Yapraklarından Gaz Kromatografisi ile Elde Edilen Kromatogram Görüntüsü.

Tablo 3.3. İhlamur Türlerinin Uçucu Bileşenlerinin Oranları

Uçucu bileşenler	<i>T. cordata</i> subsp. <i>cordata</i> , çiçek	<i>T. platyphyllos</i> Scop, çiçek	<i>T. tomentosa</i> <i>a</i> çiçek	<i>T. argentea</i> çiçek	<i>T. cordata</i> subsp. <i>Cordata</i> çiçek+brakte	<i>T. platyphyllos</i> Scop, çiçek+brakte	<i>T. tomentosa</i> çiçek+brakte	<i>T. argentea</i> çiçek+brakte
Butanal, 2-methyl-	0,96	0,16	.	.	0,41	.	.	.
Heptanal	0,25	.	.	.	0,28	.	.	.
N-benzylidene-dimethylammonium chloride	2,92	3,49	2,42	3,22	3,34	2,77	3,08	3,4
2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	0,26	.	0,34	0,6	0,29	.	0,22	0,4
Phenol	1,11	1,19	1,23	.
Furan, 2-pentyl-	3,52	.	0,44	0,31	0,44	0,31	0,28	0,3
1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0,55	0,3	.	.	.	0,54	.	.
1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	0,36	0,56	.
1-Decyne (CAS)	3,41	1,24	1,57	1,16	1,9	.	.	1,23
(2E)-2-HEXENOIC ACID	0,67	.	1,06	0,31	.	1,55	1,41	0,67
Benzenemethanol	4,06	6,09	3,26	2,5	1,99	4,57	3,92	1,93
Benzeneacetaldehyde	0,73	0,43	0,72	0,78	1,14	0,57	0,6	0,95
Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	1,29	0,44	.	0,26	0,99	0,55	0,37	.
DICUMYL PEROXIDE	0,25	0,2	0,37	0,25	0,3	.	0,19	0,21
(3E,5E)-3,5-OCTADIEN-2-ONE	2,09	.	.	0,8	1,15	0,83	0,95	.
Heptanoic acid (CAS)	1,36	0,42	0,46	0,4	1,13	0,47	0,3	0,32
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	11,51	2,62	2,44	0,63	6,36	2,32	1,83	0,34
Nonanal (CAS)	1,97	0,6	0,73	0,65	1,45	.	.	.
Benzeneethanol	17,34	32,8	28,23	32,39	8,78	20,15	20,44	22,36
Benzeneacetonitrile	0,72	1,38	.	0,67	0,65	0,74	.	0,72

Tablo 3.3. İhlamur Türlerinin Uçucu Bileşenlerinin Oranları (Devamı)

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	1,32	0,48	0,45	0,68	1,33	1,02	0,98	0,51
Benzoic acid	1,54	.	1,66	2
Octanoic acid	1,31	2,19	0,92	0,52	1,33	1,04	0,76	0,45
2-Decanone	0,52	0,63	.	.	0,52	0,24	0,2	.
3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)- (CAS)	0,17
Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	0,5	0,56	0,8	1,05	1,73	0,59	0,55	2,62
4-vinylphenol	0,43	0,41	.	0,25	0,31	0,57	0,24	0,28
Benzaldehyde, 3,4-dimethyl-	1,75	1,22	1,91	0,36	1,87	0,89	0,82	0,46
4-Methyleneisophorone	0,66	.	.	.	0,33	.	.	.
Benzaldehyde, 4-methoxy-	0,81	.	.	.	0,94	.	.	.
Nonanoic acid	3,63	3,49	3,8	5,36	6,01	3,15	3,01	3,89
Benzeneethanol, ar-ethyl-	0,52	.	.	.	0,63	.	.	.
5-METHYL-5-PROPYLNONANE	0,71	0,73	0,83	.	0,32	.	.	.
2,7,7-TRIMETHYLBICYCLO[2.2.1]HEPT-2-ENE	0,57	.	.	0,3	0,78	0,58	0,69	.
2-Methoxy-4-vinylphenol	0,25	0,82	1,18	0,92	0,54	0,95	0,77	0,96
2,6,10-Trimethyltridecane	0,34	0,65	1,23	0,69	0,55	0,31	.	0,5
Nonane, 5-(2-methylpropyl)- (CAS)	0,23	.	.	0,37	.	.	.	0,23
(1S,2S,3R,5S)-(+)-2,3-PINANEDIOL	0,82	.	.	.	0,39	.	.	.
2(3H)-Furanone, dihydro-5-pentyl- (CAS)	0,18	0,26	0,36	0,18	0,21	0,24	0,2	.
ETHANOL, 2-(P-METHOXYPHENYL)-	0,89	0,75	1,2	0,61	0,58	0,67	.	0,49
Isocaulalol	0,32	.	.	.	0,19	.	.	.
Octadecane	0,57	0,57	0,96	0,19	0,19	0,37	0,23	0,19
Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	0,46	.	1,21

Tablo 3.3. İhlamur Türlerinin Uçucu Bileşenlerinin Oranları (Devamı)

Ionone <(E)-, alpha->	0,28	0,25	.
Benzene, p-diacetyl-	0,35	0,23	0,49	0,46	0,46	0,55	0,66	0,6
trans-Geranylacetone	0,77	0,73	.	.	2,19	1,46	0,79	1,38
Farnesene <(E)-, beta->	0,41	0,99	.	.
Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,18	0,56	0,59	0,37	0,68	0,41	0,34	0,28
Benzenemethanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-.alpha.-methyl-	0,69	0,49	0,88	0,53	0,62	.	.	0,57
2H-Pyran-2-one, 5,6-dihydro-6-pentyl-, (R)-	0,58	.	.	.	2,16	.	.	.
5-METHYL-5-PROPYLNONANE	0,28	0,73	0,83	.	0,32	.	.	.
Octadecane, 1-chloro-	0,62	.	1,17	1,11	1,01	0,42	.	.
Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,26	0,28	0,15	0,2	0,32	0,32	0,24	0,28
Benzenemethanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-.alpha.-methyl-	0,72	0,49	0,88	0,53	0,62	.	.	0,57
Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,45	0,24	.	0,23	0,19	.	.	.
2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	0,21	0,19	.	0,21	0,4	0,29	0,24	0,4
Octadecane <n->	0,23	0,32	0,19	0,71	1,33	1,07	0,98	0,85
2-methyl-propanoic acid, 2,2-dimethyl-1-(1-methylethyl)-1,3-propanediyl ester	0,41	0,29	.	0,24	0,37	0,24	0,21	0,37
Oxo - pentadeca - diene	0,15	0,23	0,19
2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	0,69	2,59	4,46	8,98	6,4	8,73	9,93	10,65
Pentadecanoic acid	0,14	.	0,11	0,26	.	0,9	0,22	0,8
Kaur-16-ene, (8.beta.,13.beta.)-	0,36	0,26	0,13	.	1,51	0,43	.	.
Hexacosane	0,46	0,33	1,53	1,44	2,79	3,08	0,25	4,75
TOPLAM (%)	82,07	70,66	69,96	73,68	70,72	66,07	58,17	65,1
Diğer (%)	17,93	29,34	30,04	26,32	29,28	33,93	41,83	34,9

3.2.2. Toplam Fenolik Madde Miktarına ait Bulgular

İçerisinde dört farklı tür bulunduran 52 ıhlamur genotipi üzerinde yapılmış toplam fenolik madde miktarının belirlenmesine dair çalışmalar sonucunda her bir genotip için toplam fenolik madde miktarları Tablo 3.4’de sunulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek toplam fenolik madde miktarının genotip numarası 4 olarak belirlenmiş olan Kayseri’nin Talas ilçesinde *T. platyphyllos* Scop’dan örneklenen genotipte 77.02 ± 1.05 mgGAE/g olduğu kaydedilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elde edilen verilere bakıldığında en düşük toplam fenolik madde miktarının ise 34. genotip numarasına sahip olan Bursa’nın Gemlik ilçesinden toplanmış olan *T. tomentosa* türüne ait genotipte olduğu belirlenmiş olup, toplam fenolik madde miktarının ise 3.63 ± 1.05 mgGAE/g olduğu tespit edilmiştir. Fenolik madde miktarları genel olarak değerlendirildiğinde genotipler arasında yüksek varyasyon olduğu görülmektedir. Genotiplerdeki yüksek varyasyon türlere bağlı olarak değil, genotiplere bağlı olarak değişmiştir. Bunun çevresel koşullar ve yetiştiricilik koşullarından kaynaklanabileceği muhtemeldir. Yapılan önceki çalışmalara bakıldığında, Polonya’da doğal olarak yetişen küçük yapraklı ıhlamurun (*T. cordata* Mill.) çiçeklerindeki fenolik bileşiklerin (fenolik asitler ve flavonoidler) içeriği ve kompozisyonu açısından kimyasal değişkenliği araştırmış olup, analiz edilen popülasyonların, biyolojik olarak aktif bileşiklerin birikimi açısından önemli ölçüde farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Fenolik asitlerin toplam içeriği 0.17 ile $1.87 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ arasında, flavonoidlerin ise 0.09 ile $0.52 \text{ g} \times 100 \text{ g}^{-1}$ arasında değişim gösterdiği rapor edilmiştir (Kosakowska ve ark., 2015). Yapılan bir başka çalışmada ise *T. platyphyllos* Scop. bitkilerinden elde edilen fenolik bileşikler açısından, zengin hidroetanolik ekstraktların antioksidan, anti-inflamatuar ve antitümör potansiyelleri değerlendirilmiş ve doğrudan fenolik bileşik içerikleriyle ilişkilendirilmiştir. Ihlamurların yüksek fenolik bileşenlere sahip olduğu belirtilmiştir (Jabeur ve ark., 2017).

Tablo 3.4. Dört Farklı Türe Ait 52 İhlamur Genotipinin Toplam Fenolik Madde Miktarları

Genotip No	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g)	Genotip No	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g)
1	21.97±1.28	27	25.69±0.91
2	32.31±0.54	28	33.26±0.11
3	27.44±1.02	29	55.58±0.36
4	77.02±1.05	30	45.55±3.39
5	20.25±0.44	31	27.97±0.72
6	43.99±0.91	32	60.86±1.74
7	46.11±0.62	33	37.35±0.65
8	54.24±2.01	34	3.63±1.05
9	29.58±0.78	35	14.95±0.35
10	12.48±0.36	36	36.98±1.19
11	63.08±0.81	37	52.24±2.01
12	8.69±0.25	38	23.92±0.24
13	19.86±0.66	39	45.11±0.62
14	51.65±0.35	40	46.17±0.62
15	34.83±0.65	41	49.16±0.88
16	12.91±0.51	42	32.46±0.60
17	10.10±0.19	43	47.08±1.40
18	21.17±0.43	44	45.46±0.91
19	16.84±1.06	45	51.24±0.59
20	30.22±0.42	46	76.78±1.87
21	32.55±1.00	47	57.40±0.42
22	38.48±0.14	48	52.56±0.49
23	32.71±0.35	49	75.26±0.57
24	34.66±1.09	50	73.02±0.86
25	39.99±0.91	51	55.87±0.65
26	30.09±0.80	52	36.79±0.24

3.2.3. Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizine Ait Bulgular

Yapılmış olan çalışmalar sonucunda dört farklı türe ait 52 genotipten elde edilen ıhlamur çiçeği ekstraktlarından en yüksek DPPH antiradikal aktivitenin %93.23 ile genotip numarası 24 olan *T. cordata* subsp. *cordata* türüne ait olduğu kaydedilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda en düşük DPPH antiradikal aktivitenin ise %5.30 ile genotip numarası 34 olarak belirlenmiş olan *T. tomentosa* olduğu ölçülmüştür.

İhlamur çiçeklerinin DPPH antiradikal süpürme aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarlarının önemli bir korelasyon göstermekte olduğu belirlenmiştir. Dört farklı türe ait 52 ihlamur genotipinde yapılmış olan DPPH antiradikal süpürme aktivitesi sonuçları aşağıda sunulan Tablo 3.5’de verilmiştir.

Başka bir çalışmada, sık tüketilen bazı bitkilerin fenolik madde içeriği, antioksidan potansiyel ve fenolik bileşenler incelenmiştir. Fenolik madde içeriği en yüksek olan bitkiler adaçayı, ihlamur, defneyaprağı ve melisa olarak belirlenmiştir. En düşük fenolik madde içeriği ise anason, çemen ve rezene yaprağında tespit edilmiştir. Antioksidan potansiyel açısından değerlendirildiğinde ise ihlamur, adaçayı, defneyaprağı ve melisa en yüksek antioksidan kapasiteye sahip bitkiler olarak görülmüştür. Fenolik madde içeriği ile antioksidan potansiyel arasında yüksek bir ilişki olduğu gözlenmiştir. DPPH ve ABTS analizleri sonucunda elde edilen EC50 değerlerine göre ise en yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitkiler ihlamur olurken en düşük aktivite anasona aittir. Çalışmada fenolik bileşenler açısından protocatechuic asit, kafeik asit, klorojenik asit ve ferulik asitin yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir. Flavonoidlerden ise kuersetin ve kamferol tespit edilmiştir (Karadağ, 2019).

Bir başka çalışmada, limon otu, ihlamur, ekinezya, adaçayı, biberiye, funda, yeşil çay ve mate bitkileri ile miks olarak adlandırılmış bitki karışımı materyal olarak kullanılarak, farklı formlarda bitki çayı içeceği üretimi gerçekleştirilmiştir. Fenolik madde miktarı en yüksek olan bitkiler adaçayı, ihlamur, defneyaprağı ve melisadan oluşmuştur. En düşük fenolik madde miktarı ise anason, çemen ve rezene yaprağında bulunmuştur. Antioksidan potansiyel açısından incelendiğinde ise ihlamur, adaçayı, defneyaprağı ve melisanın en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Fenolik madde miktarı ile antioksidan potansiyeli arasında güçlü bir ilişki olduğu gözlenmiştir. DPPH ve ABTS analizleri sonucunda elde edilen EC50 değerlerine göre en güçlü antioksidan aktiviteye sahip bitki ihlamur iken en zayıf aktivite anasona aittir. Ayrıca yapılan analizler sonucunda protocatechuic asit, kafeik asit, klorojenik asit ve ferulik asitin yaygın olarak bulunduğu fenolik bileşenler tespit edilmiştir. Flavonoidlerden ise kuersetin ve kamferol saptanmıştır (Suna, 2014).

Tablo 3.5. Ihlamur Genotiplerinin Antiradikal Aktivite (DPPH) Analizi Sonuçları

Genotip No	DPPH (%)	Genotip No	DPPH (%)
1	57.66±4.52	27	57.86±0.72
2	83.50±4.51	28	85.40±0.33
3	90.32±0.43	29	89.94±1.92
4	89.73±0.67	30	17.97±3.28
5	83.31±1.84	31	46.06±3.25
6	89.45±1.28	32	20.66±2.60
7	87.70±4.33	33	85.14±2.07
8	90.45±0.68	34	5.30±0.25
9	58.10±2.77	35	44.16±0.19
10	25.56±0.93	36	90.71±0.83
11	91.04±0.57	37	75.50±1.00
12	17.98±1.90	38	91.40±0.16
13	43.13±0.62	39	76.33±1.00
14	90.50±0.75	40	91.52±0.20
15	90.28±0.05	41	59.04±4.69
16	39.63±1.65	42	91.58±0.05
17	41.85±1.00	43	90.90±0.16
18	48.18±1.38	44	90.86±0.05
19	73.65±3.55	45	90.84±0.47
20	90.42±0.93	46	91.24±0.23
21	89.19±1.58	47	90.65±0.53
22	91.81±0.14	48	88.93±0.11
23	76.95±2.06	49	89.38±0.11
24	93.23±3.24	50	89.41±0.31
25	90.20±0.14	51	89.25±0.10
26	70.09±1.37	52	82.09±1.38

3.3. Moleküler Karakterizasyon Bulguları

Farklı ihlamur türlerine ait 52 genotipin genetik benzerlik ve farklılıkları ISSR ve iPBS moleküler markör yöntemleri yardımıyla belirlenmiştir. Çalışmada 20 ISSR primeri ve 40 iPBS primeri, ihlamur genotiplerine ait bulk DNA ile test edilmiştir. Çalışma yüksek amplifikasyon göstererek, skorlanabilir bant ürettiği belirlenen, 9 adet ISSR ve 9 adet iPBS primeri ile çalışma yürütülmüştür. Çalışmada, ISSR moleküler markörleri ile elde edilmiş olan görüntülerden, toplam 67 bant skorlanmış ve 61 tanesinin polimorfik bant olduğu tespit edilmiştir. Primer başına ortalama 6.7 adet polimorfik bant düştüğü gözlemlenmiştir. Primerlerin polimorfizim oranlarının %66,6-100 arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Yine 9 adet iPBS primeri ile elde edilen görüntülerden

toplamda 114 bant skorlanmış ve bunlardan 108 tanesinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada iPBS primerleri başına düşen ortalama bant sayısının 12 adet olduğu tespit edilmiştir. ISSR primerlerin polimorfizm oranlarının %86,6 ve iPBS primelerinin polimorfizm oranının %93,68 olduğu belirlenmiştir. En yüksek amplifikasyon, toplamda 24 bant ile iPBS2230 primerinden elde edilmiştir. En düşük bant sayısı ise, 5 skorlanabilir bant ile ISSR primeri (AG)7YC primerinden elde edilmiştir. Primer başına bant sayısının 5-24 arasında olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. ISSR ve İpbs Primerleri ile Elde Edilen Toplam Bant, Polimorfik Bant, Polimorfizm Oranları ve Bant Büyüklüklerine Ait Veriler

Primer ismi	Sekansı (3'- 5')	Toplam Bant Sayısı (Adet)	Polimorfik Bant Sayısı (Adet)	Polimorfizm Oranı (%)
iPBS 2379	TCCAGAGATCCA	17	16	94,1
iPBS 2231	ACTTGGATGCTGATACCA	10	10	100
iPBS 2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	15	13	86,6
iPBS 2230	TCTAGGCGTCTGATACCA	24	24	100
iPBS 2383	GCATGGCCTCCA	14	14	100
iPBS 2220	ACCTGGCTCATGATGCCA	8	7	87,5
iPBS 2384	GTAATGGGTCCA	12	12	100
iPBS 2217	ACTTGGATGTCGATACCA	6	6	100
iPBS 2238	ACCTAGCTCATGATGCCA	8	6	75
(TCC)5RY	TCCTCCTCCTCCT CCRY	6	4	66,6
GACA)4	GACAGACAGACAG ACA	7	6	85,7
(CAC)6	CACCACCACCACC ACCAC	8	6	75
(AGC)6G	BDBCACACACACA CACAC	6	6	100
BDB(CA)7C	VHV GTG TGT GTG TGT GTG	6	5	83,3
VHV(GT)7G	VHV GTG TGT GTG TGT GTG	12	12	100
HVH(TCC)7	HVHTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCC	7	5	71,4
AGCAGC)3G	AGCAGCAGCAGCA GCAGCG	5	5	100
(AG)7YC	AGAGAGAGAGAGAGYC	10	10	100
	ISSR Toplam	67	61	86,88
	iPBS Toplam	114	108	93,68
	Genel Toplam	181	169	90,28

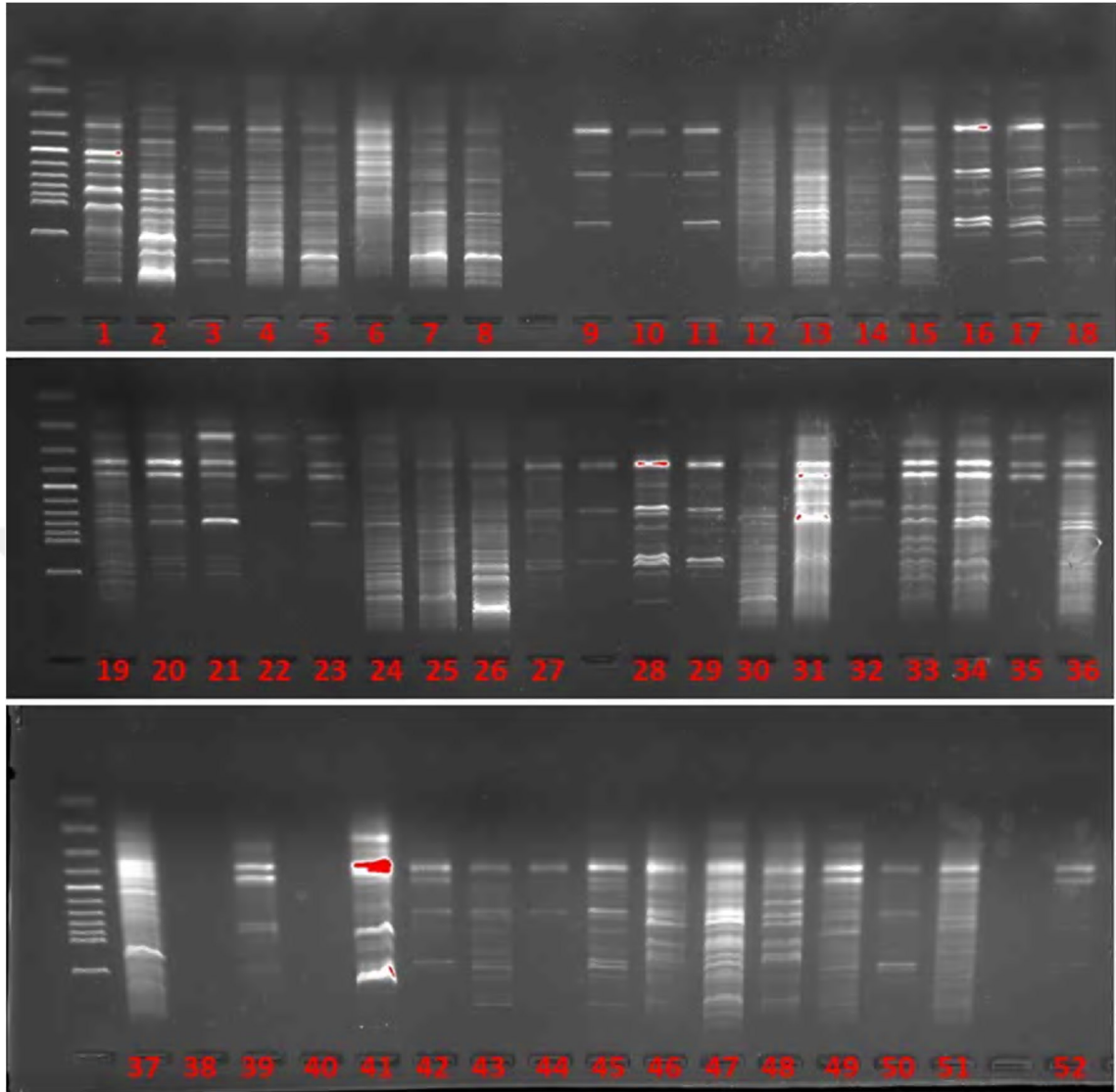
* Tek Harf Karşılığı Bazların Kısaltmaları: Y(C, T); R (A, G); D (A, G,T); B (C,G,T); H (A,C,T); V (A, C, G)

Çalışmada kullanılan ISSR ve iPBS primerlerinin polimorfizm oranları belirlenmiştir. Ek olarak, primerlerin allelik frekansları (p ve q), etkili allel sayıları (Ne), Shannon primer bilgi indeksleri (I), primerlerin beklenen heterozigotluk seviyeleri (He), ve tarafsız beklenen heterozigotluk oranları (uHe) hesaplanmıştır (Tablo 3.7).

Çalışmada kullanılmış olan ISSR ve iPBS primerlerinin PİK hesaplama sonuçlarına göre Etkili allel sayısı (Ne) değerinin ortalama 1,576 olduğu tespit edilmiştir. Ne değeri için en yüksek değer iPBS 2379 primerinde 1,750, en küçük değer ise iPBS 2238 primerinde 1,294 olduğu belirlenmiştir. Primerlerin allel frekansları incelendiğinde, q allel frekansı ortalama değeri 0,624 olduğu tespit edilmiştir. En yüksek q değerinin iPBS 2384 primerinde 0,756 ve en düşük q değerinin ise (TCC)5RY primerinde 0,272 olduğu tespit edilmiştir. Ortalama değeri 0,376 olan p allel frekans değeri için en yüksek değerin (TCC)5RY primeri kullanıldığında ulaşıldığı ve en yüksek değerin 0,728 olup en düşük değerin ise iPBS 2384 primeri uygulandığından 0,244 olduğu belirlenmiştir. Ortalama değeri 0,500 olan I değerinin en yüksek değerin iPBS 2379 primeri kullanıldığından 0,585 olduğu ve en düşük değerinin ise iPBS 2238 primeri kullanıldığında 0,284 olduğu belirlenmiştir. Son olarak primerlerin beklenen heterozigotluk özellikleri belirlenmiş olup, He değeri için ortalama değer 0,336 olarak bulunmuştur. He değeri için en yüksek değerin iPBS 2379 primeri uygulandığında 0,408, en düşük değerin ise iPBS 2238 primeri uygulandığında 0,180 olduğu belirlenmiştir. Bunu takiben UHe değeri için ortalama değerin 0,339 olduğu, en yüksek değerin ise iPBS 2379 primeri kullanıldığında 0,412 olduğu ve en düşük değerin ise iPBS 2238 primeri uygulandığında 0,182 olduğu tespit edilmiştir. Yine yapılan bazı çalışmalarda *T. cordata* türünde genetik benzerlik düzeyleri çeşitli moleküler markör yöntemleri ile belirlenmiştir. Litvanya'da yüksek genetik çeşitliliğin olduğu belirtilmiş olup, çalışmada elde edilen genetik benzerlik indeksinin $He=0.66-0.71$ aralığında (Danusevičius ve ark., 2021), *T. cordata* için Polonya'da genetik benzerlik indeksinin $He=0.53-0.58$ aralığında (Logan ve ark., 2019), Rusya'da ($He = 0.56-0.59$) ve Avusturya'da ($He = 0.61$) olduğu belirlenmiştir (Logan ve ark.2019). Benzer şekilde İngiltere'de *T. cordata* türü için ortalama He değerleri ($He = 0.63$, Barker, 2017) tespit edilmiştir. Danimarka ise ortalama 0.62 ile heterozigotluk oranı tespit edilmiştir (Erichsen ve ark., 2019).

Tablo 3.7. Çalışmada Kullanılan ISSR ve iPBS Primerlerinin Polimorfizm Oranları

Primer	p	Q	Ne	I	He	UHe
iPBS 2379	0,396	□,604	1,750	0,585	0,408	0,412
iPBS 2231	0,331	0,669	1,657	0,579	0,392	0,396
iPBS 2232	0,351	0,649	1,473	0,421	0,277	0,280
iPBS 2230	0,292	0,708	1,657	0,565	0,382	0,386
iPBS 2383	0,394	0,606	1,664	0,574	0,389	0,393
iPBS 2220	0,378	0,622	1,302	0,304	0,193	0,195
iPBS 2384	0,244	0,756	1,558	0,490	0,327	0,331
iPBS 2217	0,280	0,720	1,652	0,554	0,375	0,379
iPBS 2238	0,410	0,590	1,294	0,284	0,180	0,182
(TCC)5RY	0,728	0,272	1,572	0,434	0,306	0,309
GACA)4	0,324	0,676	1,358	0,381	0,238	0,240
(CAC) 6	0,535	0,465	1,586	0,468	0,325	0,328
(AGC)6G	0,487	0,513	1,594	0,520	0,347	0,350
BDB(CA)7C	0,432	0,568	1,535	0,513	0,336	0,339
VHV(GT)7G	0,394	0,630	1,649	0,563	0,380	0,384
HVH(TCC)7	0,449	0,551	1,422	0,399	0,257	0,260
AGCAGC)3 G	0,363	0,637	1,557	0,496	0,329	0,332
(AG)7YC	0,356	0,644	1,645	0,565	0,380	0,385
Ortalama	0,376	0,624	1,576	0,500	0,336	0,339
*p ve q: allel frekansı; Ne: Etkili allel sayısı; I: Shannon'un bilgi indeksi; He: Beklenen heterozigotluk; uHe: Tarafsız beklenen heterozigotluk						



Şekil 3.23. Çalışmada 2379 iPBS Primeri ile Elde Edilen Jel Görüntüsüne Ait Görsel.

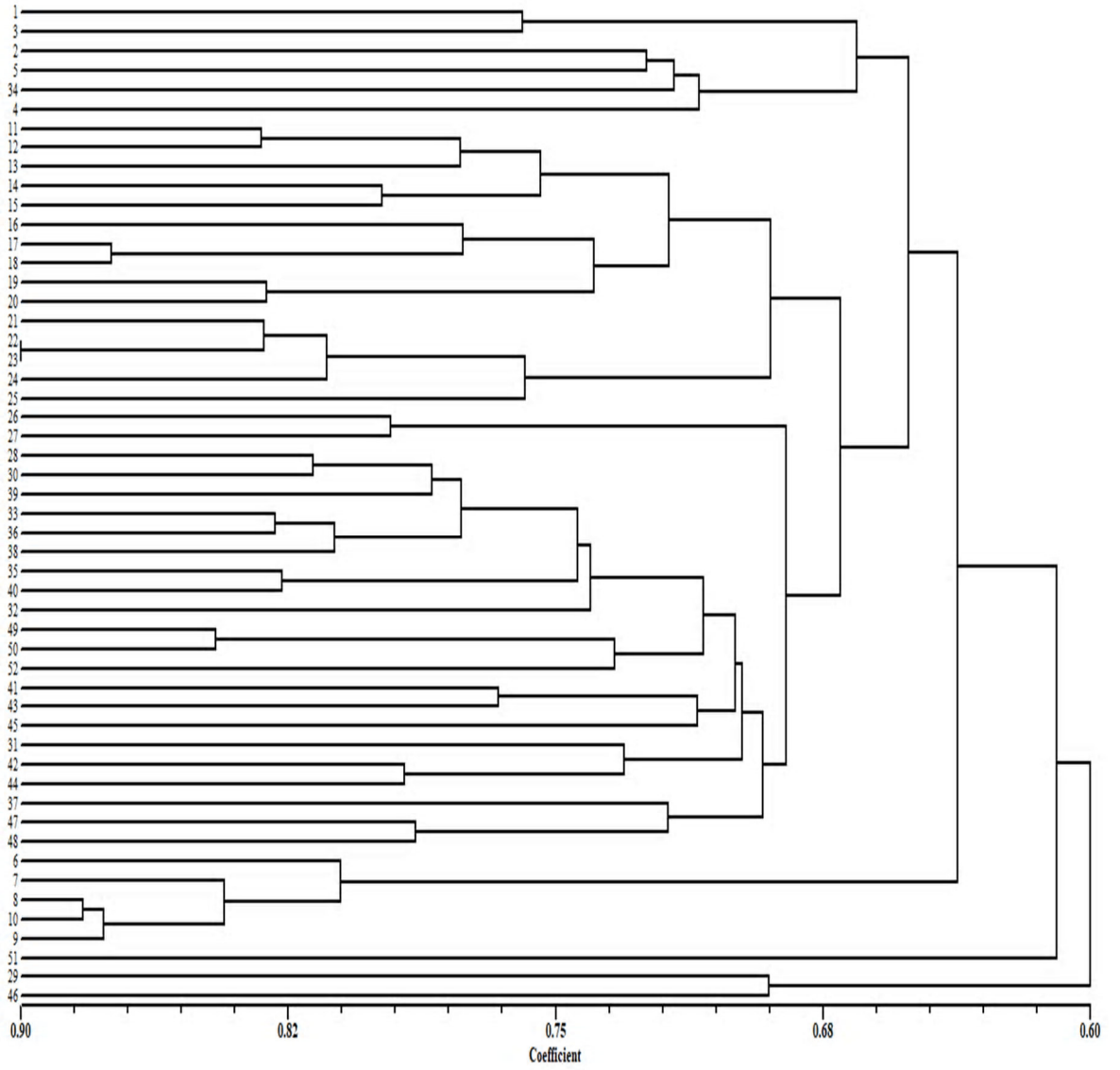
Çalışmada kullanılan 4 farklı türe ait 52 ıhlamur genotipinin genetik benzerlik ve farklılıklarını belirlemek için, 9 ISSR ve 9 iPBS primeri kullanılarak moleküler çalışmalar yürütülmüştür (Şekil 3.23). Toplamda 9 ISSR ve 9 iPBS primeri kullanılarak 181 bant elde edilmiş, bunların 169 tanesinin polimorfikken 12 tanesinin monomorfik olduğu tespit edilmiştir. Ortalama polimorfizim oranlarının ise 66,6 ile 100 arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada 9 ISSR ve 9 iPBS primerleri ile üretilen DNA verileri, Dice ve Jacard benzerlik indeksi ile UPGMA metodu kullanılarak kümeleme analizine tabi tutularak, dendrogramlar oluşturulmuştur (Şekil 3.24, Şekil 3.25 ve Şekil 3.26). Dice benzerlik matrisine göre hazırlanmış olan

dendograma bakıldığında ıhlamurda ISSR ve iPBS primerleri beraber değerlendirilerek Dice'ye dayalı benzerlik düzeylerinin 0,60-0,90 arasında olduğu ölçülmüştür. Jacard benzerlik matrisine göre belirlenmiş olan dendograda ise benzerlik düzeylerinin 0,43-0,82 arasında olduğu tespit edilmiştir. Dendograma göre, genetik olarak Kayseri'den toplanan küçük yapraklı *T. cordata* türüne ait 22 ile 23 numaralı genotiplerin 0.90 benzerlik oranına sahip oldukları görülmektedir. Bu sebeple Kayseri'den toplanmış olan küçük yapraklı *Tilia cordata* türüne ait genotiplerin yüksek genetik benzerlik göstermiş olduğu belirlenmiştir.

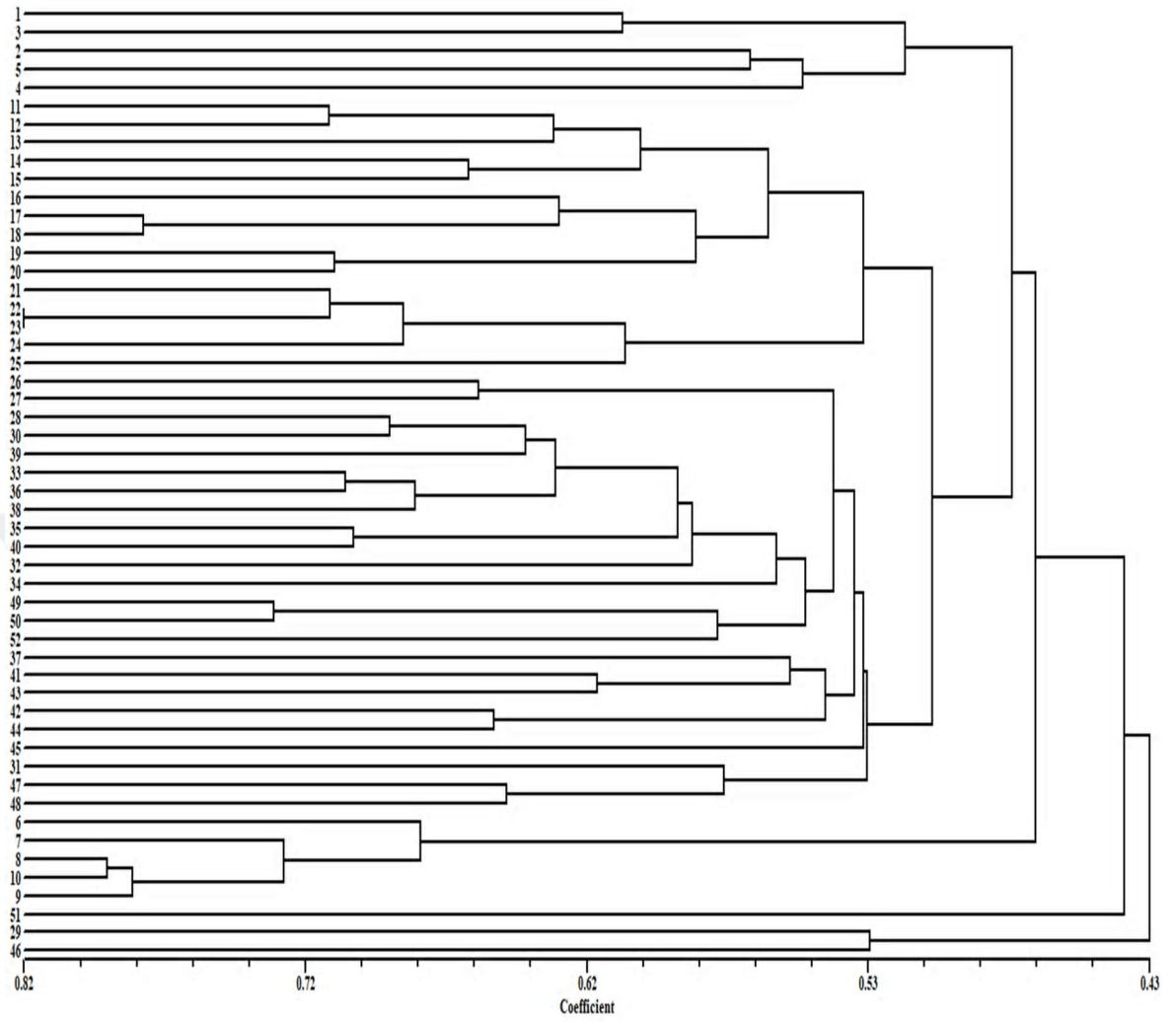
Dendogramlara göre, türlerin keskin şekilde birbirinden ayrılmadığı görülmektedir. Tüm türlerde benzer lokuslar tespit edilmiş olup, farklı türlerde de benzer genetik özellikler belirlenmiştir. Farklı türlerden bağımsız olarak genotipler popülasyon içerisinde genel bir dağılım göstermişlerdir. Ancak, ıhlamur genotiplerinin toplandıkları bölgeler dikkate alındığında, aynı lokasyonlardan toplanan ve aynı türe ait genotiplerin daha benzer genetik özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Örneğin Kayseri bölgesinden örneklenmiş olan 1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı genotiplerin aynı kümede yer aldığı görülmektedir. Yine benzer şekilde 17, 18, 19, 20, 21, 22 ve 23 numaralı *T. cordata* türüne ait aynı bölgeden örneklenen genotipler dendogramda aynı kol üzerinde yan yana sıralanmışlardır.

İngiltere'deki bir çalışmada *T. cordata* ağaçlarının %25-%40'ının vegetatif tomurcuklanmadan kaynaklandığı gösterilmiştir (Barker, 2017; Logan ve ark., 2015). Bu çalışmada yapılan analizlerde, İngiltere'nin farklı bölgelerinden toplanan *T. cordata* yaprak örnekleri kullanılmıştır. Belirli mikrosatelit belirteçleri kullanılarak yapılan analizlerde genetik varyasyon düzeyinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Logan ve ark., 2015).

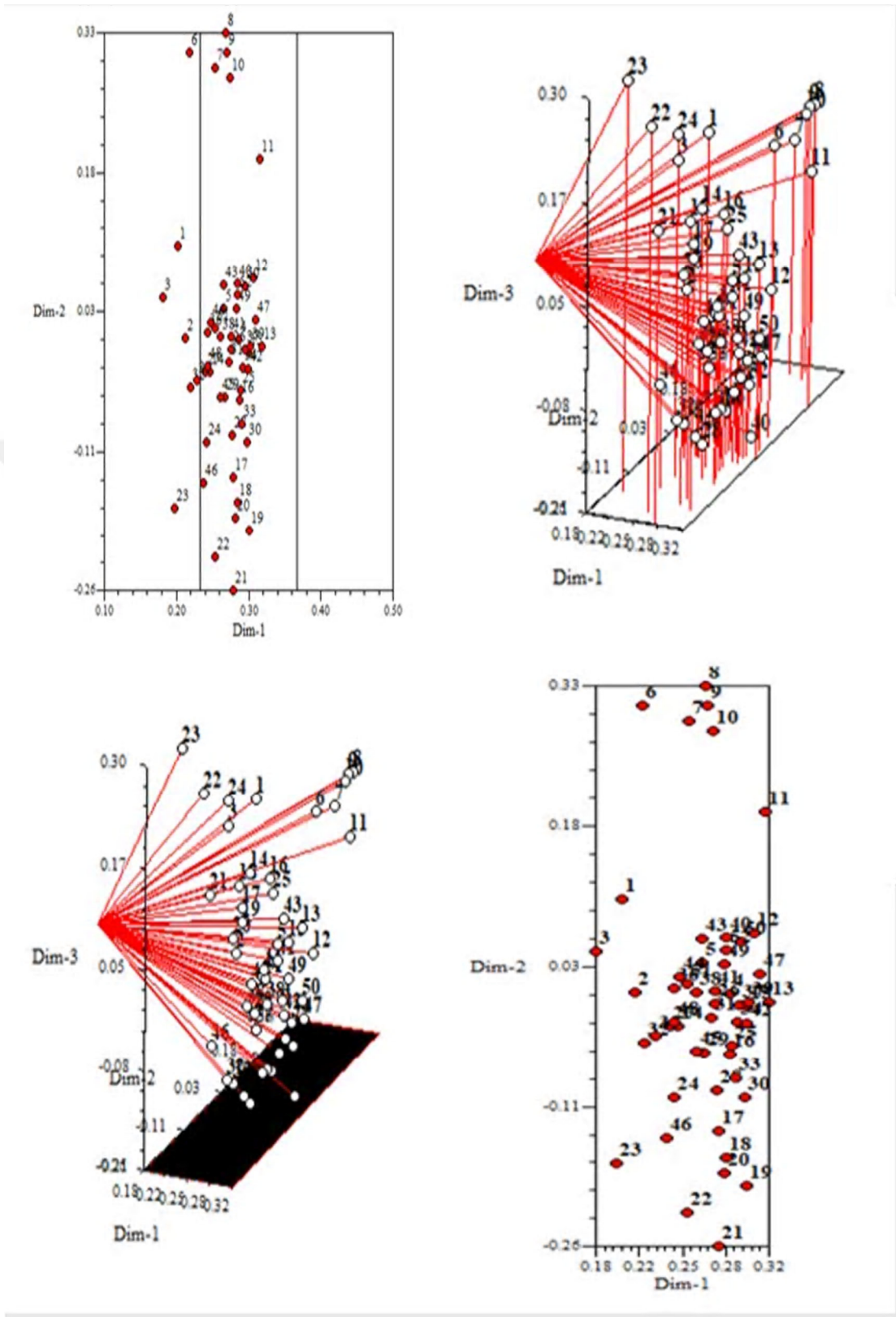
Danimarka'da yapılan bir başka çalışmada ise *T. cordata*'nın genetik çeşitliliği SSR belirteçleri kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışma için seçilen 12 farklı popülasyondaki ağaçlar üzerinde yapılan analizler sonucunda yakın mesafedeki popülasyonların genetik çeşitlilik açısından sınırlı olduğu tespit edilmiştir (Lobo ve ark., 2018).



Şekil 3.24. Ihlamur genotiplerinde iPBS ve ISSR Primerleri ile Elde Edilen Dice' a Göre UPGMA Analizi Dendogramı.



Şekil 3.25. Ihlamur Genotiplerinde iPBS ve ISSR Primerlerinin Jacard'a Göre Elde Edilen UPGMA Dendogramı.



Şekil 3.26. Principal Component Analysis (PCA) ile Elde Edilen İpbs Verileriyle 52 İhlamur Türünde Elde Edilen İki ve Üç Boyutlu Grafikler.

Farklı benzerlik matrislerinden (Dice ve Jacard) yararlanılarak oluşturulan DNA matris verileri, NTSYS programında Mantel testi ile korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Ortaya çıkan Mantel korelasyon değeri ($r = 0.90443$) oldukça yüksek bulunmuştur. İki farklı primer olan ISSR ve iPBS primerleri kullanılarak, 52 genotip için NTSYS programında temel bileşenler analizi (PCA) ile iki boyutlu ve üç boyutlu grafikler oluşturulmuştur. İki boyutlu temel bileşen analiz grafiklerine göre genotiplerin çoğu kümelenmeden dağılmıştır. Ancak aynı türe ait ve benzer morfolojik özelliklere sahip genotiplerin genetik olarak birbirine yakın yerde konumlandığı görülmüştür. Temel bileşen analizinde, ilk üç eigen değerinin kümülatif toplamı 42.30 olarak bulunmuş olup, bu oran toplam varyansın %43'ünü açıklamaktadır. İki boyutlu temel bileşen analizi grafiğine göre, genotiplerin çoğunluğu bir kümede toplanmıştır. *T. tomentosa* türüne ait olan 6, 7, 8, 9, 10 ve 11 numaralı genotiplerin ayrı bir grupta konumlanmıştır. *T. cordata* türüne ait olan 17, 18, 19, 20, 21, 22 ve 23 numaralı genotipler ise üçüncü bir grupta konumlanmıştır.

4. BÖLÜM

SONUÇ

Ihlamur *Tiliaceae* familyası içerisinde bulunan dünyada ve ülkemizde tıbbi aromatik olarak önemli değere sahip süs bitkileri içerisinde yer almaktadır.

Yapılmış bu tez çalışmasında, 4 farklı türe ait farklı bölgelerden toplanmış olan 52 adet ıhlamur genotipinde bitki morfolojik özellikleri, ıhlamur genotiplerinin uçucu bileşenlerinin kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antiradikal aktivite özellikleri belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, ISSR ve iPBS moleküler markörleri ile genotiplerin genetik çeşitliği belirlenmeye çalışılmıştır.

Ihlamur genotiplerinde bulunan çiçek salkımlarında 1-12 adet çiçek bulunduğu, gerçek yaprak eni ortalamaları 67,20 mm, gerçek yaprak boyu ortalamalarının 77,56 mm olduğu, brakte yaprak eni ortalamalarının 16,99 mm, brakte yaprak boyu ortalamalarının 79,40 mm olduğu tespit edilmiştir. Ihlamur genotiplerinde uçucu bileşenler, *Tilia tomentosa*, *Tilia cordata* subsp. *cordata*, *Tilia platyphyllos* Scop ve *Tilia argentea* için sadece çiçek ve çiçek ile brakte yaprakların birlikte olduğu 8 farklı grup oluşturularak belirlenmiştir. Ihlamur uçucu bileşenlerinde en yüksek değere sahip olan bileşenlerin, Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl), Benzeneethanol, Benzenemethanol, 1-Decyne, Furan, 2-pentyl-, N-benzylidene-dimethylammonium chloride, m-Cymen-8-ol, Nonanoic acid ve (3E, 5E)-3,5-octadien-2-one olduğu tespit edilmiştir. Yapılan biyokimyasal çalışmalar sonucunda ıhlamur genotiplerinin yüksek fenolik madde miktarlarına sahip olduğu ve genotipe bağlı olarak değişmekle birlikte yüksek antiradikal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ek olarak, ISSR ve iPBS belirteçleri yardımıyla genetik çeşitlilik belirlenmeye çalışılmış, 18 primer ile çalışmalar yürütülmüş ve toplamda 181 adet bant elde edilirken bunlardan 169 adetinin polimorfik

bant olduğu tespit edilmiştir. Ihlamurda Dice'ye göre belirlenen benzerlik oranlarının 0,60-0,90 arasında ve Jacard'a göre ise benzerlik oranlarının 0,43-0,82 arasında olduğu tespit edilmiştir. NTSYS programında temel bileşen analizi ile iki ve üç boyutlu grafikler oluşturulmuştur. Temel bileşen analizinde, ilk üç eigen değerin kümülatif toplamı 42.30 bulunmuş ve toplam varyansın %43'ü belirlenmiştir.

Günümüzde yüksek ekonomik değere sahip ıhlamurun hem süs bitkisi olarak kullanılması hem de çiçeklerinin tıbbi aromatik bitki olarak değerlendirilmesinin yanı sıra, sürdürülebilir tarım ve küresel iklim eylemi politikalarıyla uyumlu araştırmalara destek sağlaması oldukça kıymetlidir. Bu çalışma ile Türkiye'de yayılış gösteren ıhlamur genotiplerinin farklı özellikleri değerlendirilerek, genetik çeşitliliği oluşturan temel bileşenler detaylı olarak incelenmiştir. İlk kez böyle kapsamlı bir çalışma ile Ülkemiz ıhlamur gen kaynakları değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasının, bundan sonra ıhlamur üzerinde yapılacak olan çalışmalar için temel oluşturacağı düşünülmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda farklı bölgelerden örneklenen ve üstün biyokimyasal özelliklere sahip olduğu belirlenen türler ve/veya genotipler aynı lokasyonda yetiştirilerek, seleksiyon ıslahı ile üstün nitelikli bireyler çeşit adayları olarak öne çıkarılabilir. Ek olarak, bu çalışmada kullanılan primerler, genetik özellikleri bakımından, farklı ıhlamur türlerini birbirinden ayırmada yeterli olmamıştır. Gelecek çalışmalarda ıhlamura ait yeni primerler tasarlanabilir. Daha geniş ve çok sayıda primer ile çalışmalar yürütülerek, uçucu bileşenlerinden sorumlu gen bölgeleri tanımlanabilir.

KAYNAKÇA

1. Anonim, 2013. Orman Atlası. Orman Genel Müdürlüğü Yay., Ankara, http://web.ogm.gov.tr/Resimler/sanalkutuphane/orman_atlasi.pdf.
2. Akgül A ve Ünver A 2001. Bitkisel Çaylar. Gıda Mühendisliği Dergisi, **Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi**, **11**: 2124.
3. ALKAÇ, O. S., & ÇEKİÇ, Ç. (2021). Farklı IBA Dozlarının Ihlamur (*Tilia L.*) Bitkilerinde Odun Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine Etkileri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 10(2), 64-70.
4. Anşin, R., Özkan, Z.C., 2006. Tohumlu bitkiler odunsu taksonlar. KTÜ, Genel yayın no:167, Fakülte yayın no:19, Trabzon.
5. Baser, K. H. C., Özek, T. E. M. E. L., Akgül, A., & Tümen, G. 1993. Composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. **Journal of Essential Oil Research**, **5**(2), 215-217.
6. Başer, K. H. C. 1998. Tıbbi ve aromatik bitkilerin endüstriyel kullanımı. **Tab Bülteni**, **13**(14), 19-43.
7. Bajaj, YPS (Ed.). 1991. Tarım ve ormancılıkta biyoteknoloji 16. Ağaçlar III.
8. Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255, Eczacılık Fakültesi No:40, İstanbul.
9. BaileCV 1961. Erken toplama ve hemen ekim, Ihlamur Ağacı [*Tilia americana*] tohumunun çimlenmesini artırır. Ağaç Yetiştiricilerinin Notları, (46), 27-8.
10. Baytop, T. 1999. Türkiye’de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitabevleri
11. Bengtsson, R. 2005. 17. ve 18. yüzyıllara ait İsveç Bahçelerindeki adi ihlamur (***Tilia x europaea L.***) çeşidi **Cilt 2005**, Sayı 2005: 64.
12. Betül Rüyeyda AY AK 2020. "Türkiye’de Yetişen Ihlamur Ağacı Özellikleri ve Türleri". *Peyzax Mimarlık Dergisi*. 8 Temmuz 2020 tarihinde kaynağından arşivlendi. (Erişim tarihi: 14 Temmuz 2022).
13. Bondet. V., Brand-Williams, W., Berset, C. L. W. T. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. **LWT-Food Science and Technology**, **30**(6), 609-615.

14. Bozkurt, Y., Yaltırık, F., Özdönmez, M. 1982. Türkiye’de Orman Yan Ürünleri. İstanbul Üniversitesi Yayını, No: 2845, Orman Fakültesi Yayınları No:302, İstanbul.
15. Browicz, K., 1968. Tilia. In: Tutin GT, Heywood VH, Burges NA, More DM, Valentine DH, Walters SM & Webb DA, (eds). Flora europaea, rosacea to umbelliferae. Vol. 2, Second edition Cambridge university press.
16. Carles, CC ve Fletcher, JC 2003. Apikal meristem bakımını çekin: dinamik denge sanatı. **Bitki Bilimindeki Eğilimler**, 8 (8), 394-401.
17. Cavlak, S., & Yağmur, C. (2016). Bazı poşet çayların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *ÇÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 34(4), 11-9.
18. Çiftçi, M., Fırat, Y. 2006. Türkiye’de Ihlamur Türleri ve Faydalanma Olanaklarının Değerlendirilmesi. I. *Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumu*, 122-131, Trabzon.
19. Çil, A., 2012. Bazı Adi Fiğ (*Vicia Sativa L.*) Genotiplerinin Klasik Ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı. 2012. (Doktora Tezi)
20. Dalda-Sekerci, A. (2023). Comprehensive assessment of genetic diversity in chrysanthemum germplasm using morphological, biochemical and retrotransposon-based molecular markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 1-16.
21. Dalda Şekerci, A. Süs bitkisi potansiyeli yüksek olan lavanta genotiplerinin (*Lavandula sp.*) belirlenmesi, moleküler, morfolojik ve bazı fitokimyasal özelliklerinin karakterizasyonu. Erciyes Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı. 2019. (Doktora Tezi)
22. Davis, P. H. 1970. Flora of Turkey and the East. **Aegean Islands 3**. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.
23. Demir, D. (2003). *Türkiyede doğal yetişen ihlamur (Tilia L.) taksonlarının morfolojik ve palinolojik özellikleri* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
24. Dey, G., Negi, B., & Gandhi, A. 2009. Can fruit wines be considered as functional food?—An overview.
25. Doyle, J.J., 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.

26. Duan, YB, Guo, DL, Guo, LL, Wei, DF ve Hou, XG 2015. Ağaç şakayık germplazmasının iPBS belirteçleri kullanılarak genetik çeşitlilik analizi. **Genetik ve Moleküler Araştırma**, **14** (3), 7556-7566.
27. Eaton, E., Caudullo, G., & De Rigo, D. (2016). *Tilia cordata*, *Tilia platyphyllos* and other limes in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European atlas of forest tree species*, 184-185.
28. Ferreira, JJ, Garcia-González, C., Tous, J. ve Rovira, M. 2010. Kuzey İspanya'daki fındık gen plazmasındaki morfolojik özellikler ve ISSR belirteçleri ile ortaya çıkan genetik çeşitlilik. **Bitki ıslahı**, **129** (4), 435-441.
29. Feschotte, C. ve Wessler, SR 2002. Mariner benzeri transpozazlar çiçekli bitkilerde yaygın ve çeşitlidir. **Ulusal Bilimler Akademisi Bildirileri**, **99** (1), 280-285.
30. Gailite, A., Ievinsh, G. ve Ruņģis, D. 2011. Letonya ve Estonya *Saussurea esthonica* popülasyonlarının genetik çeşitlilik analizi. **Çevresel ve Deneysel Biyoloji**, **9**, 115-119.
31. Genç, M., & Güner, Ş. T. 2001. Anıt Ağaç Envanteri ve Seçimi İçin Yeni Bir Yöntem, I. **Ulusal Ormancılık Kongresi Bildiriler Kitabı**, **19**, 20.
32. Goethe, J.W., 1790. Goethe's botany: the metamorphosis of plants. Translated by A. Arber as Goethe's Botany (1946). *Chronica Botanica*, 10: 63–126.
33. Gulsen, O., Shearman, R.C., Vogel K.P., Lee D.J., Baenziger, P.S., Heng_Moss, T., Budak, H., 2005. Nuclear Genome Diversity and Relationships Among Naturally Occurring Buffalograss Genotypes Determined by sequence-related amplified polymorphism. **Hortscience**. **40**: 537-541.
34. Guo, DL, Guo, MX, Hou, XG ve Zhang, GH 2014. Üzüm çeşitlerinin iPBS belirteçlerine dayalı moleküler çeşitlilik analizi. **Biyokimyasal Sistemik ve Ekoloji**, **52**, 27-32.
35. Gülnur K. 1995. Scientific Reviews /Bilimsel Taramalar, **FABAD J. Pharm. Sci.**, **20**, 75-79,
36. Hammada, FM, Aboutabl, EH, Imbaby, SI, Nazief, HN, Abdallah, WA, Matter, MA, ... & Rady, MR. 2009. Mısır'da yetiştirilen bazı *Silybum* yerel çeşitlerinin moleküler ve fitokimyasal karakterizasyonu. **J. Genet. Müh. Biyoteknoloji**, **7**, 1-6.

37. Hayrettin KIRAÇ (2019) Türkiye'de Yaygın Olarak Yetiştiriciliği Yapılan Farklı Sarımsak Genotiplerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu YÖK Tez no:560519
38. Ivanova, V., Panchev, V., & Panayotov, N. (2016). Vegetative Propagation of *Tilia* sp. using semi-hardwood cuttings. *AGRO-KNOWLEDGE JOURNAL*, 17(2), 133-141.
39. İrlandalı, VF. 2010. Arabidopsis çiçek gelişiminin çiçeklenmesi. **Bitki Dergisi**, 61 (6), 1014-1028.
40. John L. Strother
http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=133008 26
 Temmuz 2020 tarihinde Wayback Machine sitesinde arşivlendi., **Kuzey Amerika florası (Flora of North America)**
41. Jurkšaitytė, R. S. 2007. Lithuanian Academy of Sciences Publishers/ Lietuvos mokslų akademijos leidykla. **CHEMIJA**, 18(2), 42-50.
42. Jabeur, I., Martins, N., Barros, L., Calhelha, R. C., Vaz, J., Achour, L., ... & Ferreira, I. C. 2017. Contribution of the phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tilia platyphyllos* Scop. **Food & function**, 8(3), 975-984.
43. Jing-Yuan, XU, Yan, ZHU, Ze, YI, Gang, WU, Guo-Yong, XIE ve Min-Jian, QIN 2018. Çin'deki *Tetradium rutilcarpum*'un (WuZhuYu) primerler arası bağlanma bölgesi (iPBS) işaretleyicilerine ve basit dizi tekrarı (ISSR) işaretleyicilerine dayalı moleküler çeşitlilik analizi. **Çin Doğal İlaçlar Dergisi**, 16 (1), 1-9.
44. Karadağ, A. 2019. Türkiye'deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri ve fenolik kompozisyonları. **Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi**, (16), 631-637.
45. Karakoç, D. 2011. Orta ve Doğu Karadeniz bölgesi doğal florasındaki böğürtlen genotipleri arasındaki biyoçeşitliliğin moleküler belirteçlerle saptanması (Master's thesis, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
46. Kalendar, R. ve Schulman, AH. 2006. Retrotranspozon bazlı genotipleme ve parmak izi için IRAP ve REMAP. **Doğa protokolleri**, 1 (5), 2478-2484.
47. Kazaz, Süs bitkileri ıslahı (Klasik ve Biyoteknolojik Yöntemler). 1. Basım. Edited by Soner Kazaz, Yeşim Yalçın Mendi. Ankara: Gece Akademi; 2021.

48. Kayacık, H. (1968). Orman ve park ağaçlarının özel sistematığı. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları.
49. Keeler, Harriet L. 1900. Our Native Trees and How to Identify Them. New York: Charles Scribner's Sons. ss. 24-31.
50. Kelmendi, N., Mustafa, B., Zahiri, F., Nebija, D. ve Hajdari, A. 2020. *Tilia platyphyllos scop'un uçucu yağ bileşimi. Kosova'nın farklı bölgelerinden toplandı. Rec. Nat. Prod, 14 (5), 371.*
51. Kiani, M., Memariani, F. ve Zarghami, H. 2012. İran'daki *Tulipa L.* türlerinin ISSR belirteçlerine dayalı moleküler analizi. **Bitki sistematığı ve evrimi, 298**, 1515-1522.
52. Kowalski, R., Baj, T., Kalwa, K., Kowalska, G., & Sujka, M. 2017. Essential oil composition of *Tilia cordata* flowers. **Journal of Essential Oil Bearing Plants, 20(4), 1137-1142.**
53. Kowalski, R., Baj, T., Kalwa, K., Kowalska, G. ve Sujka, M. 2017. *Tilia cordata* çiçeklerinin uçucu yağ bileşimi. **Esansiyel Yağ Taşıyan Tesisler Dergisi, 20 (4), 1137-1142.**
54. Kosakowska, O. K., Bączek, K., Przybył, J. L., Ejdys, M., Kuźma, P., Obiedziński, M., & Węglarz, Z. 2015. Intraspecific variability in the content of phenolic compounds, essential oil and mucilage of small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.) from Poland. **Industrial Crops and Products, 78**, 58-65.
55. Rifat, K. U. R. T., Karayılmazlar, S., İmren, E., & Cabuk, Y. (2016). Türkiye ormancılık sektöründe odun dışı orman ürünleri: İhracat analizi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi, 18(2), 158-167.*
56. Lobo, A., Hansen, O. K., Hansen, J. K., Erichsen, E. O., Jacobsen, B., & Kjær, E. D. 2018. Local adaptation through genetic differentiation in highly fragmented *Tilia cordata* populations. **Ecology and evolution, 8(12), 5968-5976.**
57. Logan, S. A., Phuekvilai, P., & Wolff, K. 2015. Ancient woodlands in the limelight: delineation and genetic structure of ancient woodland species *Tilia cordata* and *Tilia platyphyllos* (Tiliaceae) in the UK. **Tree Genetics & Genomes, 11**, 1-12.

58. Nemli, S., Kianoosh, T. ve Tanyolac, MB. 2015. Retrotranspozon bazlı interprimer bağlanma bölgeleri (iPBS'ler) belirteçleri aracılığıyla ortak fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) katılımlarının genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı. **Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi**, **39** (6), 940-948.
59. Özpay, Z. (1998). İhlamur'un (*Tilia* L.) tohum ve çelikle yetiştirilmesi İmkanları üzerine araştırmalar. *Batı karadeniz ormancılık araştırma enstitüsü müdürlüğü teknik bülten*, 2.
60. Pawlikowski, T. (2010). *Tilia cordata* Mill'in çiçeklerini ziyaret eden arıların (Apoidea: Apiformes) tozlaşma aktivitesi. ve kentsel bir ortamda *Tilia tomentosa* Moench. *J. Apic. Bilim* , 54 (2), 73-79.
61. Pourkhaloee, A., Khosh-Khui, M., Arens, P., Salehi, H., Razi, H., Niazi, A., ... ve Van Tuyl, J. 2017. İran lalelerinin Genetik Çeşitliliği ve Popülasyon Yapısı, EST-SSR ve NBS-LRR İşaretleyicileri tarafından ortaya çıkarıldı. **Uluslararası Bahçe Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi Dergisi**, **4** (2), 167-182.
62. Phong, NH, Pongnak, W., Soyong, K., Poeaim, S. ve Poeaim, A. 2016. Vietnam'da Yetiştirilen Çayın Çeşitliliği (*Camellia sinensis*), Morfolojik Özellikler ve Primerler Arası Bağlanma Bölgeleri (iPBS) İşaretçisine dayanmaktadır. **Uluslararası Tarım ve Biyoloji Dergisi**, **18** (2), 25-34.
63. Pigott, D. 2012. İhlamur ağaçları ve ıhlamur ağaçları: *Tilia* cinsinin biyolojik bir monografisi . Cambridge Üniversitesi Yayınları.
64. Radoglou, K., Dobrowolska, D., Spyroglou, G. ve Nicolescu, VN. 2008. Avrupa'daki limonların (*Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop. ve *Tilia tomentosa* Moench.) ekolojisi ve silvikültürü üzerine bir inceleme. **Romanya**, **15**, 16
65. Rajendra, K. C. 2009. Species differentiation in *Tilia*: A genetic approach (Doctoral dissertation).
66. Rowe, DB ve Blazich, FA. 2008. odunsu bitki tohumu kılavuzu-tilia. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı, 1113, 1118.
67. Saatçioğlu, F., 1976. Silvikültürün biyolojik esasları ve prensipleri. İ.Ü. Orman fakültesi yayını İstanbul.
68. Sablowski, R. 2007. Arabidopsis'te çiçeklenme ve kararlılık. **Deneyisel Botanik Dergisi**, **58** (5), 899-907.

69. Santalla, M., Power, JB ve Davey, MR. 1998. RAPD belirteçleri tarafından ortaya çıkarılan maş fasulyesi germplazmasındaki genetik çeşitlilik. **Bitki Islahı**, **117** (5), 473-478.
70. Sarwat, M., Das, S., Srivastava, S., 2008. Analysis of genetic diversity through AFLP, SAMPL, ISSR and RAPD markers in *Tribulus terrestris*, a medicinal herb. **Plant Cell Rep.** **27**, 519-528.
71. Sedef, K. O. Ç., & Fakir, H. 2019. Yaz Ihlamuru (*Tilia platyphyllos* Scop.)'nun Bazı Morfolojik Özellikleri İle Yaprak ve Çiçek Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi. **Bilge International Journal of Science and Technology Research**, **3**(1), 29-38.
72. Suna, S. (2014). Doğal bitki ekstraktlarından alternatif bitki çayı üretimi üzerine bir araştırma (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).
73. Schopmeyer, CS 1974. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki odunsu bitkilerin tohumları. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki odunsu bitkilerin tohumları., (450).
74. Smigielski, K., Prusinowska, R., Stobiecka, A., Kunicka-Styczyńska, A., Gruska, R., 2018. Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **21**, 1303-1314.
75. Song, Z., Li, X., Wang, H., Wang, J., 2010. Genetic diversity and population structure of *Salvia miltiorrhiza* Bge in China revealed by ISSR and SRAP. **Genetica** **138**, 241-249.
76. Suszka, B., Muller, C. ve Bonnet-Masimbert, M. (1996). Orman geniş yapraklı tohumları: hasattan ekime kadar . Sürümler **Quae. Seeds of Forest Broadleaves: From Harvest to Sowing**, 137-138.
77. Şarer, E. (1991). Uçucu yağların biyolojik etkileri ve tedavide kullanımları, 9. *Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, bildiriler kitapçığı, Eskişehir*.
78. Toker, G. 1995. Ihlamur çiçek ve kabuklarının biyolojik aktivitesi ve kullanılışı. **FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences**, **20**, 75-79.
79. Toker, G., Baser, K. H. C., Kürkçüoğlu, M., & Özek, T. E. M. E. L. 1999. The composition of essential oils from *Tilia L.* species growing in Turkey. **Journal of Essential Oil Research**, **11**(3), 369-374.

80. Toker, G., Aslan, M., Yeşilada, E., Memişoğlu, M., & Ito, S. 2001. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, **26**(1), 111-121.
81. Tuttu, G., Ursavaş, S., Söyler, R. 2017. İhlamur çiçeğinin Türkiye'deki hasat miktarları ve etnobotanik kullanımı. **Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi**, **3**(1), 60-66.
82. TURNA, A. T., Sezgin, A. Y. A. N., PARLAK, S., YILMAZ, E., GÜLSEVEN, O., & AKIN, S. S. (2020). Gümüşi ihlamur (*Tilia tomentosa* Moench.)'da aşı başarısı üzerine aşı yöntemi ve zamanının etkileri. *Turkish Journal of Forestry*, **21**(1), 1-5.
83. Türkteş, M., Metin, Ö. K., Baştuğ, B., Ertuğrul, F., Saraç, YI ve Kaya, E. 2013. Tulipa'nın (Liliaceae) kodlamayan plastid ve nükleer DNA dizilerine dayalı, Türkiye odaklı moleküler filogenetik analizi. **Linnean Society Botanik Dergisi**, **172** (3), 270-279.
84. Yaltırık, F. 1988. Dendroloji: ders kitabı. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları.
85. Yaltırık, F., 1992. Dendoloji II, Angiospermae (Kapalıtohumlular), 256s, İstanbul
86. Yang H.-B., Kang W.-H., Nahm S.-H., Kang B. C., 2015. Methods for Developing Molecular Markers.
87. Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, AA, Algur, Ö. F., & Bilaloğlu, V. 2000. *Tilia* (*Tilia argentea* Desf ex DC), adaçayı (*Salvia triloba* L.) ve Siyah çay (*Camellia sinensis*) ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin karşılaştırılması. **Tarım ve Gıda Kimyası Dergisi**, **48** (10), 5030-5034.
88. Yousefi, V., Najaphy, A., Zebarjadi, A., Safari, H., 2015. Molecular characterization of *Thymus* species using ISSR markers. *TC*, **8**, 55.
89. Yurdaer, M., & Demirci, M. (2009). Odun Dışı Orman Ürünlerinin Planlamasında Karşılaşılan Sorunlar ve Bu Konuda Yapılabilecekler. *Orman Genel Müdürlüğü İkinci Odun Dışı Orman Ürünleri Paneli*, 24-30.
90. Zhebentyayeva, T., Reighard, G., Gorina, V. ve Abbott, A. 2003. Kayısı genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi için basit dizi tekrarı (SSR) analizi. **Teorik ve Uygulamalı Genetik**, **106**, 435-444.

91. Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Dinis, A. M., Canhoto, J. M., Salgueiro, L. R., 2009. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula pedunculata* (MILLER) CAV. **Chemistry & Biodiversity**, **6**, 1283- 1292.
92. Weryszko-Chmielewska, E. ve Sadowska, DA (2010). Dört ihlamur türünde (*Tilia L.*) ieklenme ve polen salınımının fenolojisi. *Arıcılık Bilimleri Dergisi*, *54* (2), 99-108.
93. Williams, JG, Kubelik, AR, Livak, KJ, Rafalski, JA ve Tingey, SV. 1990. Rastgele primerlerle çoğaltılan DNA polimorfizmleri genetik belirteçler olarak faydalıdır. *Nükleik asit araştırması*, *18* (22), 6531-6535.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Gülşen BARUT

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bahçe Bitkileri	2024
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bahçe Bitkileri	2019
Lise	Mustafa Kemal Anadolu Lisesi, Ankara	2014

YABANCI DİL

İngilizce