

Available at: <https://dergipark.org.tr/tjws>

Turkish Journal of Weed Science

© Turkish Weed Science Society



Araştırma Makalesi / Research Article

Ordu ve Giresun İllerindeki *Sicyos* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu

Berna Nur YEŞİLTAŞ¹, Onur KOLÖREN^{2*}

¹Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye

²Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ordu, Türkiye

*Sorumlu Yazar E-mail: koloren@yahoo.com Tel: +90 452 2345010

ÖZET

Sicyos spp. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde kültür bitkilerinde, yol kenarlarında ve tarım yapılmayan alanlarda rastlanılan istilacı yabancı otlardandır. Bitki sarılcı ve tırmanıcı yapısı ile bulunduğu ortama kolayca adapte olan ve diğer bitkilerle rekabete girerek onları baskı altına alan istilacı bir yabancı ot türüdür. Bu çalışmada Ordu ve Giresun illerinin farklı noktalarından alınan otuz *Sicyos* spp.'nin populasyon örneklerinin genetik karakterizasyonunun belirlenmesinde ribozomal DNA (rDNA) İnternal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgeleri kullanılmıştır. Analizler Neighbour-Joining (NJ), Maximum-Parsimony (MP) ve Maximum-Likelihood (ML) algoritması kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, iki haplotip bulunmuştur. Haplotip-1 ve Haplotip-2'nin sırasıyla *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira ve *S. angulatus* L. ile %100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Dokuz örnek ile Haplotip-1 arasında sırasıyla %68 ve %74 (NJ/MP) oranında genetik akrabalık saptanmıştır. Altı örnek ile Haplotip-2 arasında ise sırasıyla %69, %80 ve %70 (NJ/MP/ML) oranında benzerlik bulunmuştur. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira ülkemiz florası için yeni bir türdür.

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

Molecular Characterization of *Sicyos* Species in Ordu and Giresun Provinces

ABSTRACT

Sicyos spp. which is invasive weed species in crops, roadside and uncultivated area in the Eastern Black Sea Region. The plant is an invasive weed species that is easily adapted to its environment with its clinging and climber structure and which compete with other plants and suppress on them. In this study, population samples of thirty *Sicyos* spp. collected from different locations of Ordu and Giresun provinces were determined to be genetic diversity by using ribosomal DNA (rDNA) Internal Transcribed Spacer (ITS) gene regions. Analyzes were performed by using Neighbour-Joining (NJ), Maximum-Parsimony (MP) and Maximum-Likelihood (ML) algorithm. According to the results, two haplotypes were found. Haplotype-1 and Haplotype-2 were similar 100% *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira and *S. angulatus* L., respectively. A genetic relationship was found 68% and 74% (NJ / MP) between the nine samples and Haplotype-1, respectively. Haplotype-2 was similar to six samples at the rate 69%, 80%, 70% (NJ / MP / ML), respectively for phylogenetic relationship. *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira is a new species for our country flora.

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

GİRİŞ

Türkiye, bulunduğu konumdan dolayı çok sayıda bitki türünün gen merkezi halindedir. Bitkilerin çeşitlilikleri bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Bunun en önemli nedeni ise; farklı iklim tipleri, topoğrafik çeşitlilikler, jeolojik çeşitlilikler, göl, deniz, akarsu gibi değişik su ortamı çeşitlilikleri, yükseklik farklılıkları ve ekolojik farklılıklardır (Atalay, 1994; Çelik, 2003; Parmaksız, 2004). *Sicyos* cinsinin de ilavesiyle ülkemiz florasında Cucurbitaceae familyasına ait 4'ü doğal (*Citrullus* Eckl. & Zeyh., *Ecballium* A. Rich., *Bryonia* L., *Cucumis* L.) ve 5'i de egzotik (*Momordica* L., *Lagenaria* Ser., *Luffa* L., *Cucurbita* L., *Sicyos* L.) olmak üzere toplam 9 cins bulunmaktadır (Duman ve Güner, 1996). Ülkemizde ham bostan, it dolanbacı isimleri ile bilinmektedir (Güner ve ark., 2012). *Sicyos* cinsinin Avustralya ve Amerika'nın ılıman ve tropik bölgelerinde yaklaşık 15 türü bulunmaktadır. *Sicyos angulatus* L. Kuzey Amerika'da tarımın yoğun olduğu ve sulanan tarlalarda sıkça görülen istilacı yabancı ot olarak kabul edilmektedir. Özellikle balkabağı mısır ve soya gibi yazlık kültür bitkilerinde sorun oluşturan yabancı otlar arasında yer almaktadır (Messersmith ve ark., 1999, 2000; Shimizu, 1999; Esbenschade ve ark., 2001; Kurokawa ve ark., 2009; Korkmaz ve ark., 2016). *S. angulatus* L. bitkisi ülkemizde yeni görülmesine karşın oldukça sık bir yayılma alanına sahiptir. *S. angulatus* istilacı özelliği yanında bazı zararlı böcek ve hastalık etmenlerine konukçuluk yapmaktadır (Anonim, 2010). İstilacı yabancı ot olan *S. angulatus*'un ülkemizde tespit edildiği 1996 yılından itibaren özellikle Karadeniz Bölgesi'nde tarla bitkileri, bahçe bitkileri (fındık, çay ve kivi), ve sebze ekim alanları dışında yol ve dere kenarları, boş alanlarda yayılma göstermekte ve zarar oluşturmaktadır (Duman ve Güner, 1996; Terzioğlu ve Anşin, 1999; Önen ve ark. 2013; Önen ve ark., 2015). Ülkemize kuzey doğu sınırından girdiği, yatayda Ordu ili dahil dört ilde yayılış gösterdiği, düşeyde ise 1200 m'nin üzerindeki rakımlara kadar ulaşabildiği saptanmıştır (Anonim, 2014).

Yabancı otların taksonomisi bitkileri tanımada, kültür bitkileriyle rekabetini ve mücadeleleri hakkında yardımcı olmaktadır. Morfolojiye göre yapılan klasik taksonomi çalışmaları gen düzeyindeki değişimleri göz önünde bulundurulmadığı için çoğu zaman hatalı tanımlamalara yol açmaktadır. Literatürde genelde

morfolojiye dayandırılarak yapılan sınıflandırma sistemlerinde, yeni moleküler teknik ve uygulamaları ile birçok eksik ve yanlış sınıflandırılmış takson ve akrabalık ilişkileri belirlenmiştir (Batur, 2014). Moleküler isaretleyiciler bitki biyoteknolojisinde kullanılan önemli gelişmelerdendir. Moleküler isaretleyiciler genomda herhangi bir gen bölgesi yada gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) bulunmasından sonra Basit Dizi Tekrarları (SSR), Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP), Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (SRAP), Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm (AFLP) ve Baz Dizilimi Arası Tekrarlar (ISSR) gibi değişik moleküler işaretleme yöntemleri saptanmıştır. İşaretleme yöntemleri; genetik çeşitlilik, yeni genlerin bulunması ve soy ağacı çalışmalarında geniş kullanıma sahiptirler (Filiz ve Koç, 2011). Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgeleri bitki sistematiğinde filogenetik ilişkilerin tespit edilmesinde çok sıkça kullanılmaktadır (Fior ve ark., 2006; Sevindik, 2011).

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

MATERYAL ve YÖNTEM

Bitki Materyali

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Ordu ve Giresun illerinden fındık bahçeleri ve boş alanlardan otuz *Sicyos* spp. popülasyon örneği alınmıştır. Alınan örneklerin bulunduğu yerlerin koordinat bilgileri Küresel Konumlandırma Sistemi (GPS) cihazı ile saptanmıştır (Çizelge 1). DNA izolasyonu için alınan *Sicyos* örneklerinin genç yaprakları izolasyon işlemi yapılmadan kadar laboratuvarında -80 °C'de korunmuştur.

Moleküler Çalışmalar

DNA izolasyonunda hücre duvarının kırılarak DNA'nın hücre içerisinde serbest kalması gerekmektedir. Bunu yapmak üzere Ordu ve Giresun illerinden toplanmış olan DNA bulunduran otuz *Sicyos* türü örneğinin yaprakları mekaniksel olarak sıvı nitrojen (sıvı azot) ile muamele edilmiştir. Haymes'in (1996) CTAB protokolü modifiye edilerek ve DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen GmbH,

Hilden-Almanya; Danquash, 2002) DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Kolören ve ark., 2016). DNA moleküllerini ayırt etmede kullanılan jel elektroforez yöntemi yardımı ile DNA içeriği kontrol edilmiştir.

Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgeleri için universal primerler ITS1 (5'-AATGCGTGTTT-3') ve ITS4 (5'-GTCTAGTTCAG-3') kullanılmıştır. PZR protokolü, 1 döngü 95 °C'de 15 dak., sonrasında 35 döngü olacak şekilde, 94 °C'de 1 dak., 52 °C'de 2 dak, 72 °C'de 2 dak. ve son olarak da 10 dak 72 °C'de uygulanmıştır. PZR ürünleri agaroz jelde (% 1.5) 100 V'da 60 dk yürütülmüştür. Gel DocBioRad 2000 jel dökümantasyon sistemi kullanılarak Jelde oluşan DNA bantları görüntülenmiştir.

Sekans Analizi ve Filogeni Ağacı

Sekans dizilim analizi Macrogen (Hollanda) firmasından hizmet alınarak yapılmıştır. BioEdit (Hall, 1999)

programından faydalanılarak sekans sonuçlarına göre baz dizileri düzenlenmiştir. ClustalW (Thompson ve ark., 1997) modülü rDNA-ITS gen bölgesi için GenBank'tan sağlanan referans sekans dizileri (Çizelge 2) ve sekans sonuçlarının mukayese edilmesinde kullanılmıştır. Hizalanmış baz dizilerinin haplotipleri saptamada DNA Sequence Polymorphism (DnaSP 5.10) programı kullanılmıştır. Filogenetik Soy Ağacının oluşturulmasında Maximum-Likelihood (ML), Maximum-Parsimony (MP; Eck ve Dayhoff, 1966; Fitch, 1977) ve Neighbor-Joining (NJ; Saitou ve Nei, 1987) algoritmaları kullanılmıştır. Filogenetik Soy Ağacın güvenilirliği Bootstrap testinde (Efron, 1982; Felsenstein, 1985) 10000 tekrarlar NJ, 1000 tekrarlar MP ve ML için yapılmıştır. MEGA6 (Tamura ve ark., 2013) paket programı kullanılarak Filogenetik Soy Ağacı oluşturulmuştur.

Çizelge 1. *Sicyos* spp. örneklerinin alındığı yerlere ait koordinatlar

Populasyon Kodu	Yer	Enlem	Boylam
G1	Giresun-Merkez	40°52'45"	38°26'21"
G2	Giresun-Merkez	40°52'32"	38°25'17"
K1	Giresun-Keşap	40°54'52"	38°26'37"
K2	Giresun-Keşap	40°53'41"	38°32'41"
K3	Giresun-Keşap	40°52'54"	38°24'46"
K4	Giresun-Keşap	40°50'.52"	38°30'78"
D1	Giresun-Dereli	40°52'45"	38°26'24"
D2	Giresun-Dereli	40°73'.45"	38°45'06"
D3	Giresun-Dereli	40°57'21"	38°22'21"
D4	Giresun-Dereli	40°52'.16"	38°27'34"
D5	Giresun-Dereli	40°61'.16"	38°33'29"
B1	Giresun-Bulancağ	40°56'34"	38°17'8"
B2	Giresun-Bulancağ	40°56'41"	38°13'51"
B3	Giresun-Bulancağ	40°56'17"	38°12'48"
B4	Giresun-Bulancağ	40°53'17"	38°10'6"
P1	Giresun-Piraziz	40°55.56"	38°08'64"
P2	Giresun-Piraziz	40°57'.10"	38°08'32"
G1	Ordu-Gülyalı	40°56'.42"	38°03'16"
U1	Ordu-Ulubey	40°52'.16"	37°41'27"
U2	Ordu-Ulubey	40°50'.31"	37°45'27"
U3	Ordu-Ulubey	40°52'.51"	37°75'27"
F1	Ordu-Fatsa	40°59'.57"	37°30'34"
F2	Ordu-Fatsa	40°1'.56"	37°28'29"
F3	Ordu-Fatsa	41°1'27"	37°31'.23"
ÇT1	Ordu-Çatalpınar	40°54'32"	37°28'18"
ÇT2	Ordu-Çatalpınar	40°52'41"	37°27'22"
ÇT3	Ordu-Çatalpınar	40°53'49"	37°27'38"
ÇM1	Ordu-Çamaş	40°56'19"	37°29'24"
ÇM2	Ordu-Çamaş	40°55'53"	37°30'54"
ÇM3	Ordu-Çamaş	40°57'47"	37°30'21"

Çizelge 2. *Sicyos* spp.'nin genbank'tan sağlanan erişim numaraları

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

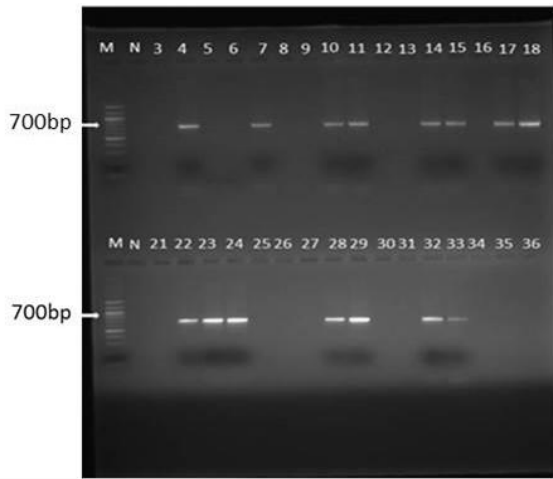
BULGULAR ve TARTIŞMA

DNA Sequence Polymorphism (DnaSP 5.10) programı gen bankasından alınan *Sicyos* spp. referans dizilerinin mukayese edilmesinde kullanılmış olup, 2 haplotip saptanmıştır. Çizelge 3'de saptanan haplotipler, benzer türler ve bulunan örnek sayıları verilmiştir.

Çizelge 3. *Sicyos* spp.'nin rDNA-ITS Gen Bölgesi Haplotipleri ve Örnek Sayıları

Haplotipler	Türler	Örnek Sayıları
Haplotip-1	<i>Sicyos davilae</i> Rodr.-Arév. & Lira	9
Haplotip-2	<i>Sicyos angulatus</i> L.	6

ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak otuz *Sicyos* spp. örneği çalışılmıştır. Jel görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.

**Şekil 1.** Ordu ve Giresun illerinden toplanan *Sicyos* spp. örneklerinin rDNA-ITS gen bölgesinin agaroz jel içindeki görüntüsü. Kuyucuk M: 100 bp ladder (New England

Biolabs) Kuyucuk N: Negatif kontrol (steril su), Kuyucuk 4: CM2-DNA, Kuyucuk 7: U2-DNA, Kuyucuk 10: P2-DNA, Kuyucuk 11: B1-DNA, Kuyucuk 14: B4-DNA, Kuyucuk 15: K1-DNA, Kuyucuk 17: K3-DNA, Kuyucuk 18: K4-DNA, Kuyucuk 22: G2-DNA, Kuyucuk 23: D1-DNA, Kuyucuk 24: D2-DNA, Kuyucuk 28: F1-DNA, Kuyucuk 29: F2-DNA, Kuyucuk 32: CT2-DNA, Kuyucuk 33: CT3-DNA.

Sonuç olarak jel görüntülerine bakıldığında 4. kuyucukta Ordu-Çamaş 2-CM2, 7. kuyucukta Ordu-Ulubey 2-U2, 10. kuyucukta Ordu-Perşembe 2-P2, 11. kuyucukta Giresun-Bulancak 1-B1, 14. kuyucukta Giresun-Bulancak 4-B4, 15. kuyucukta Giresun-Keşap 1-K1, 17. kuyucukta Giresun-Keşap 3-K3, 18. kuyucukta Giresun-Keşap 4-K4, 22. kuyucukta Giresun-Merkez 2-G2, 23. kuyucukta Giresun-Dereli 1-D1, 24. kuyucukta Giresun-Dereli 2-D2, 28. kuyucukta Ordu-Fatsa 1-F1, 29. kuyucukta Ordu-Fatsa 2-F2, 32. kuyucukta Ordu-Çatalpınar 2-CT2 ve 33. kuyucukta Ordu-Çatalpınar 3-CT3 örneklerimiz *Sicyos* türü olarak tespit edilmiştir. Bu veriler yardımı ile filogeni ağaçlarının çizimi yapılmıştır. Çizelge 4'de Haplotip-1 ile diğer haplotipler arasındaki nükleotit değişimleri gösterilmiştir. 179. nükleotit pozisyonunda Haplotip-1 Sitozin nükleotitine sahipken Haplotip-2 ise Timin nükleotitine sahiptir. 440. nükleotit pozisyonu da aynı şekilde, Haplotip-1 Sitozin nükleotitine sahipken Haplotip-2 Timin nükleotitine sahiptir. 582. nükleotit pozisyonunda ise Haplotip-1 Adenin nükleotitine sahipken Haplotip-2 Guanin nükleotitine sahiptir. 616. nükleotit pozisyonunda ise Haplotip-1 Sitozin nükleotitine sahipken Haplotip-2 Timin nükleotitine sahiptir. Haplotip-1; (B1: Bulancak1, CM2: Çamaş2, D1: Dereli1, D2: Dereli2, F1: Fatsa1, G2:

Giresun2, K3: Keşap3, K4: Keşap4, P2: Piraziz2) isimli örnekler yer almaktadır. Haplotip-2 içinde; (B4: Bulancak4, CT2: Çatalpınar2, CT3: Çatalpınar3, F2:

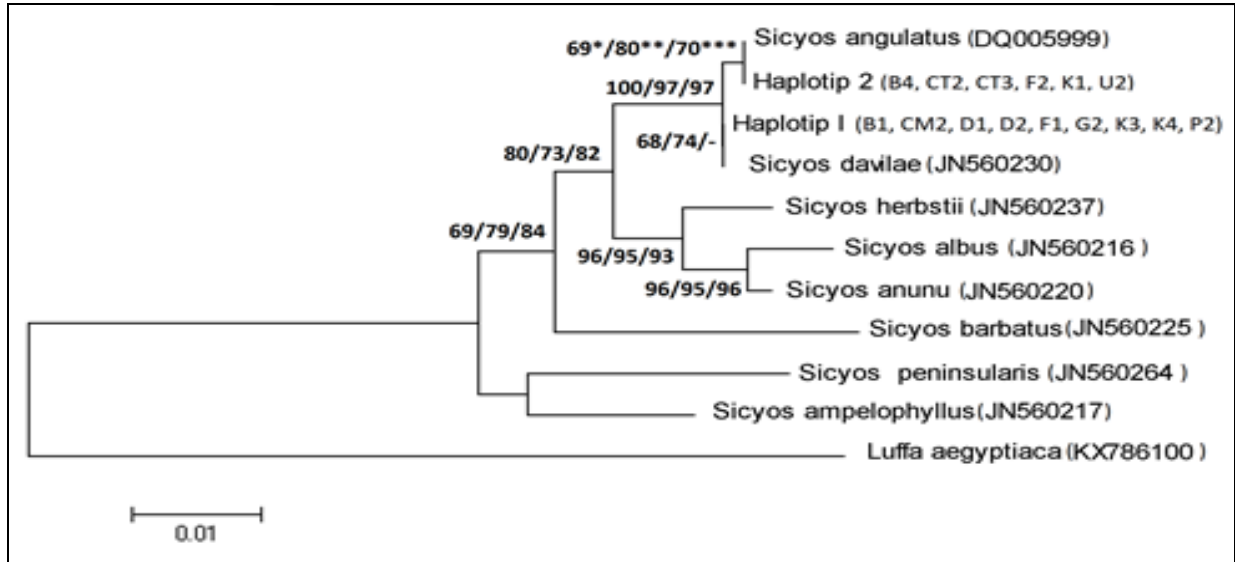
Fatsa2, K1: Keşap1, U2: Ulubey2) isimli örnekler yer almaktadır.

Çizelge 4. Haplotipler arasında nükleotit farklılıkları

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

Haplotip-1 ve Haplotip-2 genotiplerinin *S. devilea* Rodr.-Arév. & Lira ve *S. angulatus* L. arasında benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Haplotip-1, *S. devilea* türü ile %100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir, Haplotip-2'nin ise *S. angulatus* L. türü ile %100 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen filogenetik ilişki ve referans dizileri Şekil 2 ve Çizelge 5'de

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



Şekil 2. Filogenetik Soy Ağacı (*: Neighbor-Joining (NJ), **: Maximum-Parsimony (MP), ***: Maximum-Likelihood (ML))

Çizelge 5. Haplotipler arasındaki ikili genetik mesafeleri (gri gösterilen), DNA dizilerinin benzerlikleri (%) ve genbanktan sağlanan türler

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

Ali ve ark., (2010), yürütmüş oldukları çalışmada Nükleer ribozomal (ITS) poliformizm yöntemini kullanarak, filogenetik ilişkileri değerlendirmek üzere Cucurbitaceae familyasına ait 18 alt türü analiz etmişlerdir. Elde edilen verilere göre *Benincasa*, *Coccinia*, *Cucumis*, *Diplocyclos*, *Lagenaria* ve *Solena* arasında %78 oranında benzerlik bulunmuştur. Bu gruplardan *Benincasa*, *Cucumis* türleri arasında ise %80 oranında benzerlik saptanmıştır. *Lagenaria*, *Diplocyclos*-*Coccinia*-*Solena* alt grupları arasında ise %78 oranında benzer olduğu, *Trichosanthes* ve *Luffa* arasında %93 oranında benzerlik olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada yer alan *Benincaseae* ve *Joliffeae* türlerinin birbirinden farklı olduğu bildirilmiştir. Schaefer ve ark., (2009), 115 türün 114'ü ve 960 türün %25'i için bir multigene filogenisi kullanarak, bitkilerin en ekonomik öneme sahip ailelerinden biri olan Kabakgillerin tarihini ele almışlardır. Dünya çapında örnekleme, 30 herbaryumdan örnekler kullanarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan çıkan sonuçlar, Asya kökenli Kabakgiller olduğunu ve akabinde, Afrika, Amerika ve Avustralya kıtalarına uzun mesafe yayılımı yoluyla tekrarlanan soy yayılmasını ortaya çıkarmıştır. Jobst ve ark. (1998), Cucurbitaceae familyasına ait yirmi altı cinsin filogenetik ilişkilerini nükleer ribozomal RNA genlerinin ITS1 ve ITS2 bölgelerinin dizilerinden tahmin etmişlerdir. *Cucumis* ve *Cucurbita* cinsleri üzerine daha çok yoğunlaştıkları çalışmalarında *Sicyos* cinsinin *Cyclanthera* cinsi ile aynı kolda olduğunu bildirmişlerdir. Kurokawa ve ark. (2009)'ları istilacı bitkileri kontrol etmekte etkili yöntemlerin geliştirilmesi

için bitki genetik çeşitliliğinin önemli olabileceğini vurgulamışlardır. *S. angulatus*'un Japonya'daki yem bitkileri ve doğal bitki örtüsü arasında yetişen yaygın ve istilacı bir yabancı ot olduğu belirtilmiştir. Baz dizilimi arası tekrarlar (ISSR) genotiplemeyle Japonya'da *S. angulatus*'un genetik varyasyon modelleri saptanmıştır. Dört adet ISSR primeri 15 güvenilir bant üretmiştir ve bunların 12'si orta ve kuzeydoğu Japonya'da altı alan arasında polimorfik olduğu belirlenmiştir. Terzioğlu ve Anşin, (1999), *S. angulatus* için dağılım alanları ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. A7 Trabzon olarak: Yomra, A8 Trabzon Araklı, Of ve Çaykara'ya ek olarak A8 Artvin: Borçka daha önce belirlenmiştir. Detaylı morfolojik ölçümler ve Cucurbitaceae cinsinin teşhis anahtarı İngilizce olarak sıralanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışma sonuçlarına bakarak *Sicyos* spp. türlerinin Artvin, Trabzon'dan sonra Giresun ve Ordu illerinde de saptanmıştır. Rodríguez-Arévalo (2012), Chiapas (Meksika) ve Guatemala'da yapmış olduğu çalışmada yeni bir *Sicyos* spp. bulmuştur. Çalışmada toplanan *Sicyos* spp. türleri 1400 ila 3800 m yükseklikteki alanlardan toplanmıştır ve yeni bulunan türün adı ise *S. lirae*'dir. Bu türün stigma loblarının şekli, yumurtalık ve meyve bakımından da *S. galeottii* Cogn'a benzediğini de belirtmiştir. Rodríguez-Arévalo ve ark., (2004), yürütmüş oldukları bir başka çalışmada ise Meksika'da iki yeni *Sicyos* türü saptamışlardır. Yapmış oldukları taksonomik çalışmalar sonucunda Guerrero eyaletinden alınan örneğin *S. cordifolius*'a, Oaxaca eyaletinden alınan örneğin ise, *S. bulbosus* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir. Ntuli ve ark., (2015), KwaZulu-Natal Eyaleti'nde bulunan üç

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

Geniş sınıflandırmaya sahip türlerin altcinslerini sınıflandırma işlemi günümüzde hala sorun teşkil etmektedir. Kapsamlı olarak yürütülen moleküler çalışmalar *S. angulatus*'un altcinslerini belirlemede ve sistematik olarak yeniden tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada görüldüğü üzere rDNA-ITS *Sicyos* spp'nin altcinslerinin yeni

türlerin teşhisinde ve moleküler farklılıkları saptanmasında kullanılmaktadır.

Sonuç olarak Karadeniz Bölgesi'nde tarım alanlarında, boş alanlarda ve yol kenarlarında sıkça rastlanan istilacı yabancı otlardan *Sicyos* spp. ile ilgili ülkemizde bu konuda yapılan moleküler bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, *Sicyos* spp.'ye ait moleküler düzeyde ilk çalışma olması yönü ile özgün bir değere sahiptir. Bu çalışma gelecekte *Sicyos* spp.'ye ile ilgili yapılacak moleküler karakterizasyon çalışmalarına ışık tutacaktır. Çalışmamıza benzer genetik karakterizasyon çalışmaları ile morfolojik benzerlikleri bakımından aynı tür olarak teşhis edilen türlerin gerçekte farklı türler olabilecekleri ortaya konabilir. Ayrıca çalışmada teşhis edilen *S. davilae* Rodr.-Arév. & Lira türü Türkiye florası için yeni bir türdür. Teşhis edilen bu yeni türle gerek herboloji gerekse taksonomi ve sitemik bilimlere katkı sağlanmıştır. Ancak morfolojik ve anatomik özelliklerinin saptanarak bu tür ile ilgili bilgilerin desteklenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

- Ali MA., Al-Hemaid, FMA. (2010). Taxonomic significance of trichomes micromorphology in Cucurbits. Saudi Journal of Biological Sciences. 18(1): 87-92.
- Anonim. (2010). Datasheet on invasive alien plants. *Sicyos angulatus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 40(3): 401-406.
- Anonim. (2014). Artvin, Giresun, Rize, Trabzon İleri İtdolanbacı (*Sicyos angulatus* L.)Tür Mücadele Eylem Planı sonuç raporu <http://www.milliparklar.gov.tr/yabanhayati/turkorumasube/Itolanbac%C4%B1web.pdf>
- Atalay İ. (1994). Türkiye Vejetasyon Coğrafyası. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Batur OS. (2014). Aethionema W.T. Aiton (Brassicaceae) cinsinin moleküler filogenisi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana bilim dalı, Yüksek Lisans Tezi, 132 s.
- Çelik S. (2003). *Centaurea* L. cinsi psephelloidea (Boiss) sosn. seksiyonuna ait türlerin ekolojik özellikleri. Doktora tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Eskişehir.
- Danquah EY., Johnson DE., Riches C., Arnold GM., Karp A. (2002). Genetic diversity in *Echinochloa* spp. collected from different geographic origins and within rice fields in Cote d'Ivoire. Weed Research. 42: 394-405.
- Duman H., Güner A. (1996). A new record for the flora of Turkey, Turkish Journal of Botany, 20: 383-384.
- Eck RV., Dayhoff MO. (1966). Atlas of protein sequence and structure. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring.
- Efron B. (1982). The jackknife, the bootstrap and other resampling plans: CBMS-NSF MA, Monograph 38, Philadelphia (PA): SIAM.
- Esbenshade WR., Curran WS., Roth GW., Hartwig NL., Orztek MD. (2001). Effect of establishment date and crop competition on burcucumber fecundity. Weed Science. 49:4.
- Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution. 39: 783-791.
- Filiz E., Koç İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi. 28(2): 207-214.
- Fior S., Karis PO., Casazza G., Minuto L., Sala F. (2006). Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae inferred from chloroplast matK and nuclear rDNA ITS sequences, American Journal of Botany. 93:399.
- Fitch W. (1977). On the problem of discovering the most parsimonious tree. American Naturalist. 111: 223-257.
- Güner A., Akyıldırım B., Alkayış MF., Çingay B., Kanoğlu SS., Özkan AM., Öztekin M., Tuğ GN. (2012). Türkçe Bitki Adları. Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural M. ve Babaç, M.T. (edlr.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Hall TA. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series. 41: 95-98.

- Haymes KM. (1996). Mini-prep method suitable for a plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*. 14 (3): 280-284.
- Jobst J, King K., Hemleben V. (1998). Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae. *Molecular Phylogenetics Evolution*. 9 (2): 204-219.
- Koloren O., Koloren Z., Eker S. (2016). Molecular phylogeny of *Artemisia* species based on the Internal Transcribed Spacer (ITS) of 18S-26S rDNA in Ordu Province of Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. DOI: 10.1080/13102818.2016. 1188674.
- Korkmaz F., Karaca K., Özaslan C., Yanar Y., Önen H. (2106). Karpuz Mozaik Virüsü (WMV - 2)'nün doğal konukçusu *Sicyos angulatus*. *Turkish Journal of Weed Science*. 19 (1): 15-17.
- Kurokawa S., Kobayashi H, Senda T. (2009). Genetic diversity of *Sicyos angulatus* in central and northeastern Japan by inter-simple sequence repeat analysis. *Weed Research*. 49: 365–372.
- Messersmith DT., Curran WS., Harrwig NL., Orzolek MD., Roth GW. (1999). Evaluation of several herbicides for bur cucumber (*Sicyos angulatus*) control in corn (*Zea mays*). *Weed Technology*. 13: 520-524.
- Messersmith DT., Curran WS., Roth GW., Harrwig NL., Orzolek MD. (2000). Tillage and herbicides affect bur cucumber management in corn. *Agronomy Journal*. 92:181-185.
- Ntuli NR., Tongoona PB., Zobolo AM. (2015). Genetic diversity in Cucurbita pepo landraces revealed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae*. 189: 192-200.
- Önen H., Özaslan C., Günal H., Akyol N., Caldıran U. (2013). Expansion status of two invasive vines. Bur-cucumber and Mile-a-Minute in Turkey. 4th Esenias Workshop. International Workshop on IAS in Agricultural and NonAgricultural Areas in ESENIAS Region. 16-17 December 2013 Çanakkale, Turkey.
- Önen H., Özaslan C., Tad S. (2015). *Sicyos angulatus* L. Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu, (Edi. Hüseyin ÖNEN), T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, TAGEM, Bitki Sağlığı Araştırma Daire Başkanlığı, Ankara, ISBN: 978-605-9175-05-0, s. 458-472.
- Parmaksız İ. (2004). Papaver Cinsi Oxytona Seksiyonunun Türkiye’de Yetişen Türlerinde Genetik Çeşitliliğin RAPD Markörleri İle Analizi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Rodríguez-Arévalo I. (2003) A new species of *Sicyos* (Cucurbitaceae, Sicyoeae, Sicyinae) from Mexico and Guatemala. *Brittonia*. 55: 69-72.
- Rodríguez-Arévalo I, Lira R., Dávila P. (2004). Two new species of *Sicyos* (Cucurbitaceae) from Guerrero and Oaxaca, Mexico The Linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*. 145:373-378.
- Saitou N., Nei M. (1987). The Neighbor-joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*. 4: 406-425.
- Schaefer H., Heibl C., Renner S., (2009) Gourds afloat: a dated phylogeny reveals an Asian origin of the gourd family (Cucurbitaceae) and numerous oversea dispersal events. *Biological Sciences*. DOI: 10.1098/rspb.2008.144.
- Sevindik E, 2011. Türkiye’de Yetişen *Silene* L. Cinsinin *Auriculatae* ve *Brachypodeae* Seksiyonlarına Ait Türlerin *ITS nrDNA* Dizilerine Dayalı Filogenetik İlişkileri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Shimizu N. (1999). The level of damage by the foreign weed *Sicyos angulatus*. *Weed Science Society of Japan*. 2: 2-3.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*. 30: 2725-2729.
- Telford HRL., Sebastian P., Lange PJ., BruhlA JJ., Renner SS., (2012). Morphological and molecular data reveal three rather than one species of *Sicyos* (Cucurbitaceae) in Australia, New Zealand and Islands of the South West Pacific. *Australian Systematic Botany*. 25:188-201.
- Terzioğlu S., Anşın R. (1999). Türkiye’nin Egzotik Bitkilerine Bir Katkı: *S. angulatus* L. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 23: 359-362
- Thompson JD., Gibson TJ., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins DG. (1997). The ClustalX-Windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 25: 4876-4882.

©Türkiye Herboloji Derneği, 2019

Geliş Tarihi/ Received: Mart/March, 2019
Kabul Tarihi/ Accepted: Haziran/June, 2019**To Cite** : Yeşiltaş B.N. and Koloren O. (2019). Molecular Characterization of *Sicyos* Species in Ordu and Giresun Provinces. *Turk J Weed Sci*, 22(1):37-44.**Alıntı İçin** : Yeşiltaş B.N. ve Kolören O. (2019). Ordu ve Giresun İllerindeki *Sicyos* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu. *Turk J Weed Sci*, 22(1):37-44.