



Rize İl Sınırları İçerisindeki *Rubus* L. (Rosaceae) Türlerinin Morfolojik, Mikromorfolojik ve Moleküler Sistematik Özelliklerinin Analizi

Fatma KUYUMCU* Fatih Şaban BERİŞ Vagif ATAMOV

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 53100, Merkez/Rize, Türkiye.

Geliş Tarihi: 28.10.2021

Kabul Tarihi: 23.02.2022

Basım Tarihi: 31.03.2022

Atf yapmak için: Kuyumcu, F., Beriş, F.Ş. & Atamov, V. (2022). Rize İl Sınırları İçerisindeki *Rubus* L. (Rosaceae) Türlerinin Morfolojik, Mikromorfolojik ve Moleküler Sistematik Özelliklerinin Analizi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 7(1), 76-83.

How to cite: Kuyumcu, F., Beriş, F.Ş. & Atamov, V. (2022). Analysis of Morphological, Micromorphological and Molecular Systematic Properties of *Rubus* L. (Rosaceae) Species in Rize Province. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 7(1), 76-83.

*ID: <https://orcid.org/0000-0001-9778-614X>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-0535-943X>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-6718-7979>

*Sorumlu yazarın:
Fatma KUYUMCU
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen
Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
53100, Merkez/Rize, Türkiye.
✉: fatmakuyumcu@hotmail.com.tr

Öz: Bu çalışma ile Rize ilinde yayılış gösteren 8 *Rubus* türü morfolojik, mikromorfolojik ve moleküler sistematik yönden araştırıldı. Bitki materyalleri 2019 yılında yapılan arazi çalışmaları ile toplandı. Araştırma bölgesinden toplanan örnekler teşhis edildi ve herbaryum örneği haline getirildi. Bu türlerin gövde, yaprak ve çiçek gibi kısımları stereomikroskopta morfolojik, SEM’de ise mikromorfolojik olarak incelendi. Sonrasında örneklere ait ITS bölgeleri PZR ile çoğaltılarak dizi analizi yapıldı. Analiz sonucu 8 tür arasındaki benzerlik ilişkisini ortaya koyan filogenetik ağaç oluşturuldu. Mikromorfolojik görüntülere bakıldığında 8 tür arasında gövde, yaprak tüylenmesi, tüy tipleri ve diken yapısının ayırıcı özellikte olduğu tespit edildi. Morfolojik bulgular sonucunda 8 *Rubus* türünün yaprak, meyve, diken, petal, yaprak ve yaprakçık ölçüsü, meyve tanelerinin yapısı, sayısı ve şekli, yaprak alt ve üst yüzey, petal yüzeyi tüylenme durumu, meyve ve sepallerin rengi, yaprak kenarı yapısı bakımından birbirinden ayrıldığı, bu özelliklerin karakteristik olduğu belirlendi. *Rubus* türlerinin dizi analizi sonucunda elde edilen moleküler bulgularda ortalama baz uzunluğunun 709 ile 731 bp arasında değiştiği belirlendi. Oluşturulan filogenetik ağaç neticesinde *Rosacea* familyasına en yakın türlerin *Rubus hirtus* ve *Rubus tereticaulis*, en uzak türün ise *Rubus sanctus* olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: *Rubus*, morfoloji, mikromorfoloji, ITS, filogenetik ağaç, PZR.

Analysis of Morphological, Micromorphological and Molecular Systematic Properties of *Rubus* L. (Rosaceae) Species in Rize Province

Abstract: *Rubus* species in Rize province were compared morphologically and micromorphologically along with molecular systematics of plants in this work. Analysed plant materials were sampled during field studies conducted in 2019. The collected samples were identified according to known methods and were transferred into herbarium plants. A total of 8 taxa belonging to *Rubus* species were found. Plant parts such as stem, leaves and flowers were examined morphologically and micromorphologically under stereo microscope and SEM. Then, plant genomic DNA was isolated from fresh leaf samples by suitable methods to determine ITS profiles. Then the ITS regions were amplified by PCR and sequenced. A phylogenetic tree showing the similarity among this 8 species was then created based on the sequence analysis. The stem, leaf trichomes, trichome types and thorn structure were found to be distinctive among these 8 species when micromorphological images were examined. As a result of morphological findings, *Rubus* plants constitute 8 distinct species in terms of leaf, fruit, thorn, shape, petal, leaf and leaflet size, structure, number and shape of fruit grains, leaf adaxial and abaxial surface, trichome amount of petal surface, color of fruit and sepals and leaf edge structure. These features were characteristic for all the species examined. Molecular data showed that the average base length of *Rubus* species was found to be between 709 and 731 bps. Created phylogenetic tree revealed that the species closest to the Rosacea family were *Rubus hirtus* and *Rubus tereticaulis* while the most distant species were *Rubus sanctus*.

*Corresponding author’s:
Fatma KUYUMCU
Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of
Arts and Sciences, Department of Biology,
53100, Center/Rize, Turkey
✉: fatmakuyumcu@hotmail.com.tr

Keywords: ITS, micromorphology, morphology, PCR, phylogenetic tree, *Rubus*.

GİRİŞ

Türkiye, 780,576 km²'lik yüz ölçümü ile dünyanın 32. büyük ülkesidir. Türkiye Damarlı Bitkileri Listesi'ne göre (Güner vd., 2012), ülkemizde toplam 167 familya ve 1.320 cinsine ait 9.996 tür, 1989 alttür, 867 varyete, 263 melez tür ve 5 melez alttür olmak üzere toplam 11.707 takson bulunmaktadır. Türkiye'deki 12.000'e yakın bitki taksonundan 500'ünün tıbbi ve aromatik özellikli ve bunlardan 200 tanesinin ise ihracat potansiyeline sahip olduğu açıklanmıştır. Bu özelliklerinden dolayı Türkiye florası hem yerli, hem de yabancı botanikçilerin ilgisini çekmiştir (Özer, 2017; Koday & Erhan, 2013).

Coğrafi açıdan bakıldığında Türkiye'nin kuzeydoğusunda, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Rize ili kuzeyden tamamen Karadeniz ile çevrilmiştir. Batıda Trabzon, doğusunda Artvin, güneyde Erzurum ile komşu olan Rize fitocoğrafik olarak Avrupa Sibirya bölgesinin Kolşik flora kesiminde bulunmaktadır. İlin vejetasyonu genellikle mezofitik özellikli ormanlar, çalılar ve yüksek dağ çayırlarından oluşmaktadır. Rize ilinin florası ile ilgili yapılan çalışmalar sırasıyla Güner (1984), Vural (1996), Çobanoğlu (2012), Demir (2013), Aksoy (2013), Baykal vd. (2018), Ofluoğlu, (2015), Ekşi (2016), Süzen (2017), Sarıgül (2018), Baykal & Atamov (2018), Batan vd. (2018), Atamov & Çobanoğlu (2019), Demir & Atamov (2019) tarafından yapılmıştır. Bu bölgenin bitki örtüsü açısından ne kadar zengin olduğu yapılan birçok araştırmalardan da anlaşılmaktadır (Özer, 2017).

Ülkemizde oldukça geniş yayılışa sahip *Rubus L.* cinsine ait türler özellikle Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak bulunmaktadır ve Türkiye'deki yayılışı, birçok türü için Doğu Karadeniz Bölgesi ile sınırlıdır. Yapılan

çalışmalar yayılış alanlarıyla beraber yeni yayılış alanları, toprak özellikleri (humus içerikleri), etkileri ve ekolojileri üzerinedir (Kuyumcu, 2020).

Ülkemizde böğürtlen (*Rubus L.*) cinsine ait taksonlar özellikle Karadeniz sahil bölgelerinde yaygın olarak yetişmektedir. Böylesine yaygın olarak yetişen bu cinsine ait türlerin morfolojik olarak birbirine benzer olması ve bundan dolayı teşhisin kolay yapılması için genetik karakterizasyonunun yapılması ve daha sonraki çalışmalara da ışık tutması açısından önem arz etmektedir. Bu çalışma Rize ili hudutlarını (A8 karesi) kapsamaktadır. Çalışmanın amacı, Rize ilinde yayılış gösteren *Rubus* türlerinin morfolojik yönden incelenmesi ve filogenetik farklılıklarını Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgelerini moleküler farklılığını ortaya koyabilmektir.

MATERYAL VE METOT

Rubus cinsi Türkiye'de 8 türe ait 9 taksonla temsil edilmektedir. Bu taksonlar: *Rubus caesius L.*, *Rubus canescens DC. var. canescens*, *Rubus canescens DC. var. glabratus (Gordon) Davis & Meikle*, *Rubus caucasicus Focke*, *Rubus hirtus Waldst & Kit*, *Rubus idaeus L.*, *Rubus sanctus Schreber*, *Rubus saxatilis L.* ve *Rubus tereticaulis P.J. Mueller (Eminağaoğlu vd., 2021)*. Bu araştırmanın materyalini 2018-2019 yılları arasında Rize il sınırları içerisinde yer alan ve Tablo 1'de verilen lokalitelerden alınan *Rubus* cinsine ait türler oluşturmaktadır. Toplanan örnekler preslenerek herbaryum örneği haline getirilmiştir. Davis (1972)'e göre teşhis edilen türlerin adları Türkiye'nin Bütün Ağaçları ve Çalıları (Eminağaoğlu vd., 2021) kullanılarak kontrol edilmiştir.

Tablo 1. Bitki örneklerinin toplandığı tarih yükseklik lokalite ve habitatlar.

Table 1. The date the plant samples were collected, altitude, locality and habitats.

Yer Kod (Location code)	Yer (Location)	GPS	Yükseklik (Altitude) (m)	Habitat	Tarih (date)	Tür (Species)
A2	Ardeşen müftü 2	37 T 0667219 UTM 4562084	19	Dere kenarı yol kenarı dikenlik	10.07.2019	<i>R. caesius</i>
N1	Yeşiltepe	N4055336 E 040 48050	927	Kestane ve ıhlamur yaygın	22.06.2019	<i>R. canescens</i>
A1	Ardeşen Müftü 2	37 T 0667219 UTM 4562084	19	Yol kenarı, Dere yanı	10.07.2019	<i>R. canescens</i>
Ç2	Çamlıhemşin	37 T 0671642 UTM 4550049	411	Köy içi bahçe kenarları	7.07.2019	<i>R. caucasicus</i>
M1	Marabadam Yaylası	37 T 0647647 UTM 4522585	1500	Karışık orman Kızılağaç yaygın	22.06.2019	<i>R. caucasicus</i>
Ç4	Çamlıhemşin 4 yol	37 T 0675309 UTM 4547946	1383	Karışık orman içine step yerleşmiş	7.07.2019	<i>R. caucasicus</i>
ÇK1	Çat Köyü	37 T 0660665 UTM 4528237	1057	Orman bitki örtüsü yol kenarı	6.07.2019	<i>R. caucasicus</i>
G1	Gürpınar Köyü Babik	37 T 0668411 UTM 4524245	759	Çalılık	22.07.2019	<i>R. hirtus</i>
V2	Verçenik Yaylası	37 T 0660981 UTM 4517858	2029	Subalpin çayır	6.07.2019	<i>R. idaeus</i>
K1	Koçdüzü Yaylası	37 T 06795151 UTM 4543760	1970	Alpin çayır	7.07.2019	<i>R. idaeus</i>
K2	Koçdüzü Yaylası	37 T 06795151 UTM 4543760	1970	Alpin çayır	7.07.2019	<i>R. idaeus</i>
V3	Verçenik Yaylası	37 T 0661197 UTM 4518050	1997 m	Geniş, Alpin çayırlar	6.07.2019	<i>R. saxatilis</i>
Ç1	Çamlıhemşin	37 T 0668671 UTM 4544461	363 m	Orman içi açıklık	6.07.2019	<i>R. tereticaulis</i>
AÇ	Ardeşen	37 T 0667219 UTM 4562084	17 m	Çarşı içi	10.08.2019	<i>R. sanctus</i>

Morfolojik özelliklerin ölçümleri herbaryum materyali şekline getirilmiş bitki örneklerinden faydalanılarak yapılmıştır. Bitki örneklerinin gövde, yaprak, çiçek ve bunların kısımlarına bakılmış ve ölçüleri alınmıştır. Bazı mikro karakterlerin milimetrik oküler yardımı ile ölçülmesinde LEICA S6D marka stereomikroskopundan yararlanılmıştır (Hekimoğlu, 2019).

Yapılan incelemelerde türlerin yaprak ayası ve kenar şekilleri, yaprak alt ve üst yüzeyindeki tüylenmeler, petiyolun tüy ve diken yapısı, tüylenme durumu, stipul şekilleri ile gövde üzerindeki tüylenme ve diken yapısı gibi özellikler incelenmiştir. Yine türlere ait herbaryum örnekleri incelenerek morfolojik özelliklerinin daha iyi belirlenmesi sağlanmıştır (Gedik, 2019; Toker, 2004).

Bitki örneklerinin mikromorfolojik özelliklerinin belirlenmesinde taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) kullanılmıştır. Toplanan bitki örneklerinin yaprak ve gövde kısımları görüntülenmiştir. Alınan görüntüler 4565-PhotoScape_V3.7.exe yazılımı ile düzenlenerek yalınlaştırılmış, ölçek ve tonlamalara sadık kalınmıştır (Hekimoğlu, 2019).

SEM çalışmaları bitkilerin yaprak altı, yaprak üstü ve gövdelerinden alınan örneklerle yapılmıştır. İlk olarak polenler üzerinde çift tarafı yapışkan karbon bantlı staplara (metal taşıyıcılar) yerleştirilerek yerleşim düzeyi not edilmiştir. Bu staplar iletkenliği sağlamak amacıyla SC502 Sputter Coater yardımıyla altınla kaplandı. Altınla kaplanan yaprak ve gövde yapıları çoğunlukla 100X, 200X, 1000X ve 2000X büyütme gücünde fotoğraflandı. SEM çalışmaları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında bulunan JEOL JSM-6610 marka SEM kullanılarak 5-15 kV altında yürütüldü (Güzel, 2018).

Moleküler Çalışmalar:

Genomik DNA İzolasyonu: Laboratuvarında -20 °C’de saklanan bitki yaprak örneklerinden DNA izole etmek için sıvı azot ile öğütme işlemi uygulandı. DNA izolasyonu, Haymes (1996)’e göre revizyon yapılarak CTAB (hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide) protokolü üzerinden elde edildi.

PZR: Çalışmalarda uygulanan PZR içeriği Tablo 2’de, PZR şartları ise Tablo 3’de verilmiştir. Toplamda 25 µL olarak hazırlanan reaksiyon içeriği ve miktarları aşağıdaki (Tablo 3) gibidir.

Tablo 2. PZR içeriği (Haymes, 1996).

Table 2. PCR contents (Haymes, 1996).

Kimyasal (Chemical)	Miktar (Amount)	Stok (Stock)
DNA	2 µL	-
MgCl ₂	1,2 µL	25 mm
dNTP	1,4 µL	10 mm
ITS4 ve ITS5 primerler	2+2 µL	100 pmol
Taq DNA Polimeraz	1,5 µL	3 U/µL
10X Buffer	2 µL	10X
dH ₂ O	23 µL	-

Tablo 3. PZR şartları (Haymes, 1996).

Table 3. PCR conditions (Haymes, 1996).

Sıcaklık (Temperature)	Süre (Time)	Döngü (Loop)
94 °C	4 dakika (minute)	40 döngü (Loop)
94 °C	2 dakika (minute)	
48 °C	1 dakika (minute)	
	30 saniye (second)	
72 °C	2 dakika (minute)	
72 °C	10 dakika (minute)	

Agaroz Jel Elektroforezi; PZR ürünleri %1’lik hazırlanan agaroz jelde 110 voltta 20 dakika yürütüldü ve EtBr ile

Tablo 5. *Rubus* türlerinin yaprak boyu, çiçek boyutu ve drupa sayısı bakımından karşılaştırılması.

Table 5. Comparison of *Rubus* species in terms of leaf length, flower size and number of drupes).

	<i>R. caesius</i>	<i>R. canescens</i>	<i>R. caucasicus</i>	<i>R. hirtus</i>	<i>R. idaeus</i>	<i>R. sanctus</i>	<i>R. saxatilis</i>	<i>R. tereticaulis</i>
Yaprak boyu (leaf size)(cm)	8	9	10	7	6	2.7	4	6.5
Drupa sayısı (adet)	15	7	30	7	7	20	6	13
Çiçek eni (flower width) (cm)	-	9	10	12	11	6.5	13	1

boyanarak UVP Gel Documentation System ile UV ışığında görüntüldü.

ITS Bölgelerine Ait Verilerin Değerlendirilmesi; PZR örnekleri MedSantek (Ankara) firmasına gönderilerek aynı primerler ile DNA dizi analizine tabi tutuldu. Elde edilen sekans sonuçları NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool) internet ara yüzünden faydalanan GenBank’taki verilerle karşılaştırıldı ve CLUSTAL-W ile taksonlar arasındaki benzerlikler analizi yapılarak filogenetik ağaç çizildi.

BULGULAR

Morfolojik Bulgular: Bölgede *Rubus* cinsine ait türlerin çiçek yapısında iştirak eden anter ve petallerin boy ve en ölçüleri, filamentlerin ise boy ölçüleri Tablo 4 ’te verilmiştir.

Tablo 4. *Rubus* türlerinin anter, filament ve petal ölçülerinin karşılaştırılması.

Table 4. Comparison of anther, filament and petal sizes of *Rubus* species.

	Anter		Flament Boy(most) (µm)	Petal	
	Boy(most) (µm)	En (size) (µm)		En (size) (µm)	Boy(most) (µm)
<i>R. caesius</i>	3.39	2.29	3.26	2.41	9.03
<i>R. canescens</i>	0.54	2.99	2.02	2.66	5.47
<i>R. caucasicus</i>	0.81	0.68	4.48	3.47	9.17
<i>R. hirtus</i>	0.40	0.98	3.48	2.46	6.30
<i>R. idaeus</i>	0.76	0.64	3.79	2.74	8.09
<i>R. sanctus</i>	0.27	0.42	2.92	2.17	4.13
<i>R. saxatilis</i>	-	-	-	2.75	5.49
<i>R. tereticaulis</i>	0.47	0.33	3.54	3.04	9.12

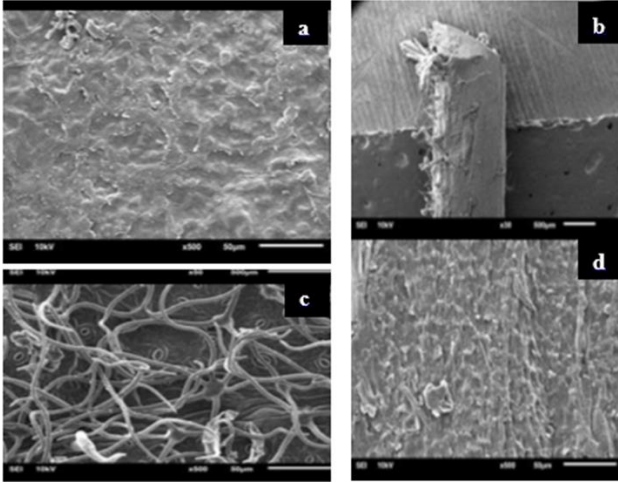
Araştırma alanında yayılış gösteren *Rubus* cinsine ait türlerin yaprak boy ölçümleri Tablo 5 ’te ve Şekil 1 ’de verilmiştir.



Şekil 1. *Rubus* türlerinin yaprak boyu bakımından karşılaştırılması.
Figure 1. Comparison of *Rubus* species in terms of leaf length.

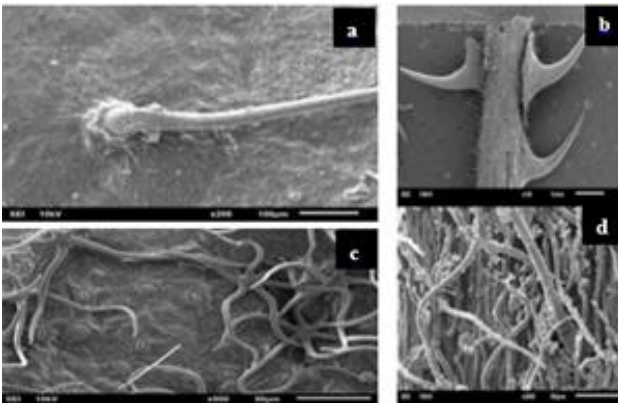
Araştırma alanı sınırları içerisinde rastlanan *Rubus* cinsine ait türlerin drupa tipi meyvelerinin drupa sayısı, çiçek boyutu, yaprak boyu bakımından karşılaştırılması sonuçları Tablo 5’de verilmiştir. Tablo 5 ‘de *Rubus caesius*’un çiçek boyutu ile ilgili bir bilgi görülmektedir. Bunun nedeni bu türe ait çiçeklerin örnek toplama döneminde meyveye dönüşmüş olmasıdır.

Mikromorfolojik Bulgular: Araştırma alanı sınırları içerisinde bulunan *Rubus* cinsine ait türlerin yaprak üstü, yaprak altı ve gövdelerine ait mikromorfolojik görüntüleri çekilmiştir. Buna göre; *Rubus caesius*’un yaprak üst yüzeyine bakıldığında tüylenme ve diken yapısına rastlanmamaktadır. Yaprak alt yüzeyinde ise yoğun ve birbirine geçmiş şekilde kıvrık krispit tüyler ve stomalara rastlanmaktadır. Gövde epidermis yapısında da yer yer salgı tüyü ve basit tüye rastlanmakta, diken yapısının yoğun olmadığı görülmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. *Rubus caesius*’a ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x500 görüntü (b) gövde x30 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x500 görüntü

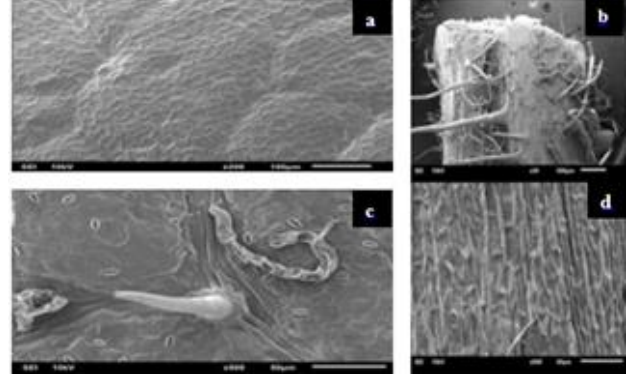
Figure 2. Micromorphological images of *Rubus caesius* (a) x500 image on the leaf (b) x30 image of the stem (c) x500 image under the leaf (d) x500 image of the stem.



Şekil 3. *Rubus canescens*’e ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x16 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x500 görüntü.

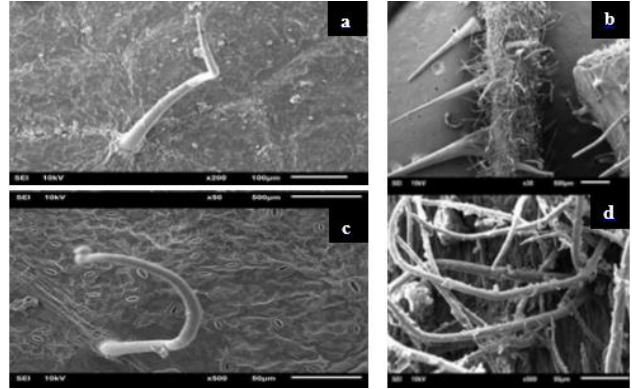
Figure 3. Micromorphological images of *Rubus canescens* (a) x200 image above leaf (b) stem x16 image (c) under leaf x500 image (d) stem x500 image.

Rubus canescens’in yaprak üst yüzeyinde seyrek basit tüyler, yaprak alt yüzeyinde ise sık kıvrık krispit tüyler ve stomalar görülmektedir. Gövde epidermis yapısına bakıldığında yoğun şekilde tüylerle kaplı olduğu ve oraksı orta tabanlı bir diken yapısı görülmektedir (Şekil 3). *Rubus caucasicus* türünün yaprak üst yüzeyinde tüylenme ve diken yapısına rastlanmazken, yaprak altında seyrek, basit, kıvrık tüyler ile stomalara rastlanmaktadır. Gövdede ise basit tüylenmeler ve yoğun bir şekilde düz uzun diken yapısı görülmektedir (Şekil 4).



Şekil 4. *Rubus caucasicus*’a ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x30 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x500 görüntü.

Figure 4. Micromorphological images of *Rubus caucasicus* (a) x200 image on the leaf (b) x30 image of the stem (c) x500 image under the leaf (d) x500 image of the stem.



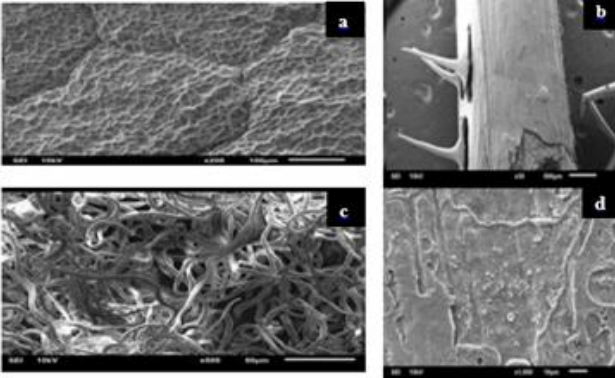
Şekil 5. *Rubus hirtus*’a ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x30 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x500 görüntü.

Figure 5. Micromorphological images of *Rubus hirtus* (a) x200 image on the leaf (b) x30 image on the stem (c) x500 image under the leaf (d) x500 image on the stem.

Rubus hirtus’un yaprak üst yüzeyinde seyrek basit tüyler, yaprak alt yüzeyinde ise üst yüzeyine oranla daha sık bir şekilde basit tüyler bulunduğu görülmektedir. Yaprak alt yüzeyindeki stoma yoğunluğu diğer türlere göre daha fazladır. Gövde epidermis yapısına bakıldığında oldukça dik uzun diken yapılarına rastlanmaktadır. Gövdeyi çok yoğun şekilde saran birbirine karışmış şekilde basit tüy yapısı bulunmaktadır (Şekil 5).

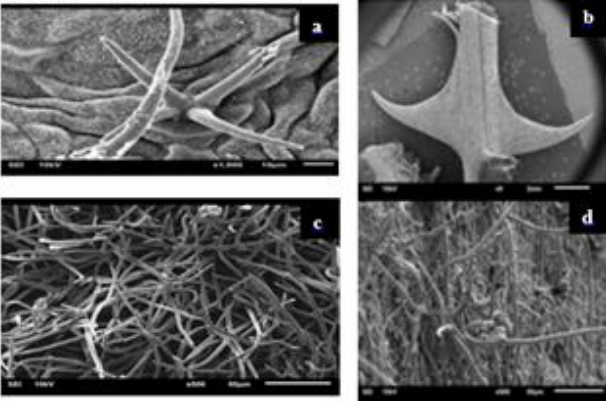
Rubus ideoeus yaprak üst yüzeyinde herhangi bir tüy ve diken yapısı görülmemektedir. Yaprak alt yüzeyine bakıldığında diğer türlerden ayrılacak şekilde oldukça yoğun basit tüy yapısı görülmektedir. Stomalar görülemez. Yoğun tüy yapısının altında olduğu

düşünülebilir. Gövde epidermis yapısına bakıldığında tüy yapısı yok denecek kadar azdır. Seyrek diken yapısı görülmektedir ve dikenler kısa dik şekildedir (Şekil 6).



Şekil 6. *Rubus idaeus* ' a ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x30 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x1000 görüntü.

Figure 6. Micromorphological images of *Rubus idaeus* (a) x200 image on the leaf (b) x30 image of the stem (c) x500 image under the leaf (d) x1000 image of the stem.

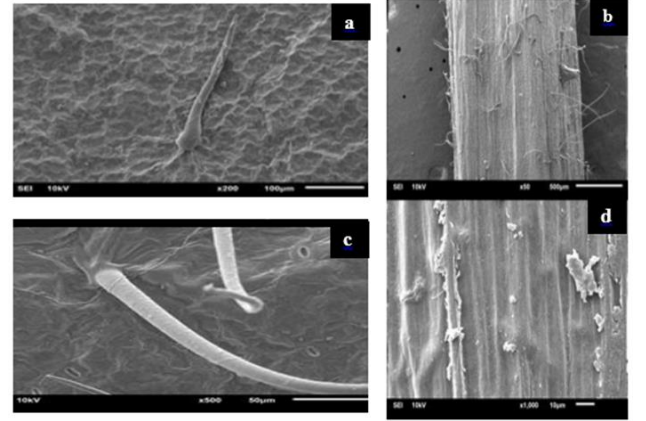


Şekil 7. *Rubus sanctus*' a ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x500 görüntü (b) gövde x9 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x500 görüntü.

Figure 7. Micromorphological images of *Rubus sanctus* (a) x500 image on the leaf (b) x9 image of the stem (c) x500 image under the leaf (d) x500 image of the stem.

Diğer türlerden farklı olarak yaprak üst yüzeyi tüylü olan *Rubus sanctus*'ta kalkık tüyler görülmektedir. Yaprak alt yüzeyine bakıldığında tüm yüzeyi kaplayan çok yoğun bir şekilde birbirine geçmiş tüy yapısı görülmektedir. Tüy yoğunluğundan dolayı tam tipi anlaşılacakla birlikte basit tüy olduğu anlaşılmaktadır. Gövdesinde ise diğer türlerden farklı olarak daha geniş tabanlı ve daha büyük bir diken yapısı görülmektedir ve tipi oraksıdır. Diken üzerinde de dahil olmak üzere tüm gövde kısa ve yoğun basit tüylerle kaplıdır (Şekil 7).

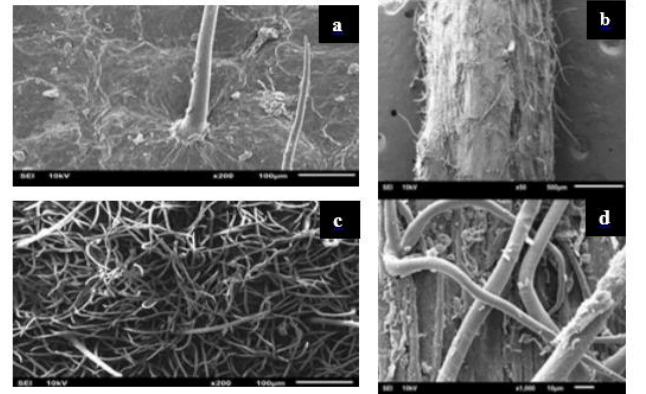
Rubus saxatilis'in yaprak üst ve alt yüzeylerinde seyrek basit tüyler görülmektedir. Yaprak alt yüzeyinde yer yer stomalara rastlanmaktadır. Gövde epidermis yapısına bakıldığında diken yapısı yok denecek kadar azdır ve çok ince seyrek basit tüyler bulunmaktadır (Şekil 8).



Şekil 8. *Rubus saxatilis*' e ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x50 görüntü (c) yaprak altı x500 görüntü (d) gövde x1000 görüntü

Figure 8. Micromorphological images of *Rubus saxatilis* (a) x200 image on the leaf (b) x50 image on the stem (c) x500 image under the leaf (d) x1000 image on the stem.

Rubus tereticaulis'in yaprak üst yüzeyinde seyrek basit tüyler, yaprak alt yüzeyinde ise tüm yüzeyi kaplayan çok yoğun şekilde birbirine geçmiş tüyler görülmektedir. Yaprak altında tüy yoğunluğundan dolayı tam tipi anlaşılacakla birlikte basit tüy olduğu anlaşılmaktadır. Gövde epidermis yapısına bakıldığında seyrek kalkık tüyler bulunmakla birlikte diken yapısı alınan görüntüde bulunmamaktadır (Şekil 9).



Şekil 9. *Rubus tereticaulis*' e ait mikromorfolojik görüntüler (a) yaprak üstü x200 görüntü (b) gövde x50 görüntü (c) yaprak altı x200 görüntü (d) gövde x1000 görüntü.

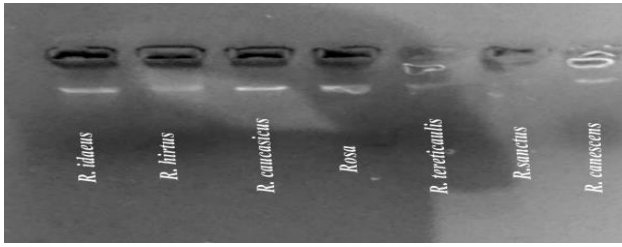
Figure 9. Micromorphological images of *Rubus tereticaulis* (a) x200 image on the leaf (b) x50 image on the stem (c) x200 image under the leaf (d) x1000 image on the stem.

Moleküler Bulgular: 2019 yılında yapılan arazi çalışmaları sonucu *Rubus* L. taksonlarının genomik DNA'ları daha önceki bölümde bahsedilen prosedüre göre çoğaltılmıştır. Şekil 10 bazı *Rubus* örneklerinin ITS bantlarının jel görüntülerini göstermektedir. Laboratuvar çalışmalarında aynı anda bantların jel görüntüleri elde edilemediğinden dolayı bir kısmı verilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda örneklere ait ITS dizileri uzunluklarının 709-731 bp arasında değişiklik gösterdiği; bütün ITS nükleotid uzunluğundaki G+C

içeriğinin ise, %55,26-56,92 arasında değiştiği bulunmuştur. G+C içeriği URL-2 'de verilen sayfada hesaplanmıştır. Her örnek için elde edilen ITS uzunluğu, G+C içeriği değerleri Tablo 6 'de verilmiştir. Bütün çalışılan örneklerin ITS bölgeleri arasındaki benzerlik ilişkileri Clustal W programından (URL- 1) yararlanılarak ortaya konmuştur (Şekil 11).

Şekil 10'a göre *Rubus hirtus* ile *Rubus tereticaulis*'in ve *Rubus idaeus* ile *Rubus caucasicus*'in arasındaki yakınlığın daha çok olduğu, *Rosaceae* familyasına en uzak taksonun ise *Rubus sanctus* olduğu ortaya konmuştur.



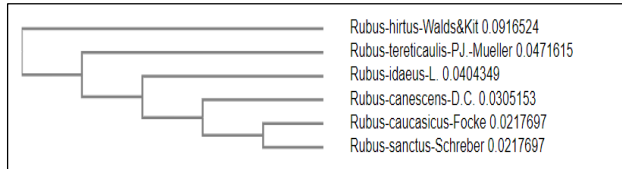
Şekil 10. Bazı Rubus örneklerinin ITS bölgelerine ait PZR bantları. (PCR amplicons of the ITS region of some Rubus species).

Figure 10. PCR bands of ITS regions of some Rubus samples. (PCR amplicons of the ITS region of some Rubus species).

Tablo 6. ITS PZR sonuçlarında elde edilen nükleotid uzunlukları ve G+C içeriği.

Table 6. Base lengths and GC contents of ITS-PCR.

Tür Adı	ITS Uzunluğu (bp)	G+C %
<i>Rubus hirtus</i>	710	56,90
<i>Rubus caucasicus</i>	714	56,44
<i>Rubus tereticaulis</i>	709	55,85
<i>Rubus sanctus</i>	712	56,04
<i>Rubus idaeus</i>	716	55,45
<i>Rubus canescens</i>	715	56,92



Şekil 11. ITS bölgelerinden CLUSTAL W ile yapılmış filogenetik ağaç.

Figure 11. Phylogenetic tree of ITS regions constructed with CLUSTAL W.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmayla Rize il'inde yayılış gösteren *Rubus* cinsine ait 8 türün olduğu görülmüştür. Morfolojik bulgular sonucunda *Rubus* cinsine ait 8 türün yaprak, meyve, diken, şekli, petal, yaprak ve yaprakçık ölçüsü, meyve tanelerinin yapısı, sayısı ve şekli, yaprak alt ve üst yüzey, petal yüzeyi tüylenme durumu, meyve ve sepallerin rengi, yaprak kenarı yapısı bakımından birbirinden ayrıldığı görülmüştür. Bu özelliklerin karakteristik olduğu belirlenmiştir.

Lokalite olarak bakıldığında *Rubus caesius*, *R. canescens*, *R. sanctus*, *R. tereticaulis*'in Türkiye yayılış haritasında Rize'de olmadığı belirtilmiş fakat yapılan

çalışmayla bu türlerin bu bölgede de yayılış gösterdiği kanıtlanmıştır.

Mikromorfolojik bulgular sonucunda bazı taksonlarda yaprak alt yüzeyinde stomaların bulunduğu bazıları ise bulunmadığı görülmektedir. *Rubus sanctus*'ta kalkık tüyler görülmektedir. *Rubus tereticaulis*, *R. sanctus*, *R. idaeus* türlerinin yaprak alt yüzeyinin diğer türlere nazaran daha yoğun tüylerle kaplı olduğu görülmüştür. Yine 8 tür arasında mikromorfolojik görüntülere bakıldığında gövde, yaprak tüylenmesi, tüy tipleri ve diken yapısının ayırıcı özellikte olduğu tespit edilmiştir.

Moleküler bulgulara göre *Rubus hirtus* ile *R. tereticaulis*, *R. idaeus* ve *R. caucasicus* arasındaki yakınlığın daha çok olduğu, *Rosaceae* familyasına en uzak taksonun ise *R. sanctus* olduğu ortaya konmuştur. *Rubus sanctus*'un en farklı tür olduğu ölçümler, diken ve tüy yapısı bakımından morfolojik ve mikromorfolojik resimlere bakıldığında da bulunan moleküler verileri desteklemektedir. Yine *Rubus hirtus* ile *Rubus tereticaulis* 'in yakınlığı sadece moleküler bulgulara göre değil, yaprak en-boy, filament boy, petal en-boy ölçümlerine bakılarak da görülebilmektedir. Bunun yanı sıra *Rubus idaeus* ve *Rubus caucasicus* arasındaki yakınlık gerek drupa sayısı gerek yaprak, petal vb. ölçülerde görülememektedir. Yapılan çalışmalar sonucu örnekler için ITS dizileri uzunlukları 709-731 bp arasında değişiklik gösterdiği; bütün ITS nükleotid uzunluğundaki G+C içeriği ise, %55,26-56,92 arasında değiştiği bulunmuştur.

Polat ve Göçmen (2008) tarafından yapılan çalışmada ahududu türleri incelenmiştir. Çalışma alanı olarak Karadeniz Bölgesi seçilmiştir. 15 ahududu tipi RAPD primeri kullanılarak DNA analizi yapılmış ve sonuç olarak genetik benzerliğinin %50 ve %98 arasında değiştiği ortaya konmuştur. Bu da Karadeniz Bölgesinde yayılış gösteren kırmızı ahududu tiplerinde genetik varyasyonun fazla olduğunu kanıtlamaktadır.

Eker ve Kolören (2017) tarafından yapılan çalışmada, Ordu ilinden *Rubus* cinsine ait 30 örnek toplanmış ve DNA izolasyon prosedürü olan Haymes (1996) CTAB (hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide) protokolü modifiye edilerek uygulanmıştır. Ribozomal RNA (rRNA) ITS gen bölgesi için, Gen Bankasından temin edilen referans sekans dizileri ile çalışmada elde edilen sekans sonuçları karşılaştırılmıştır. Dizilerin genetik uzaklıkları CLUSTAL W programı kullanılarak hesaplanmış ve bu veri setleri ile filogeni ağaçlarının çizimi yapılmıştır. Örnekler arasında on *Rubus* türü tespit edilmiştir. Örneklerinden 6 tane haplotip sonucu çıkmıştır. Bunlardan; Haplotip 1 (F3), Haplotip 3 (P2), Haplotip 4 (P5), Haplotip 5 (CM3, S1) ve Haplotip 6 (O1, CT1, CT2, CT3) %100 nükleotid dizisi benzerliği bakımından sırasıyla *R. sanctus*, *Rubus* sp., *R. divaricatus*, *R.*

conothyrsoides ve *R. capricollensis* ile yakın akraba olarak belirlenmiştir. Haplotip 2 (F6) ise, %99,8 nükleotid dizisi benzerliği bakımından *R. silvativus* ile yakın akraba olarak görülmüştür. Kullanılan teknikler çalışmamızla çok benzer olmakla birlikte incelenen taksonlar ve lokalite farklıdır.

Günay (2015) tarafından yapılan çalışmada maya suşlarının DNA dizi analizleri sonucuna göre nar meyvesinden ve ahududu meyvesinden maya izolasyonu yapılmıştır. Araştırmanın sonucuna bakıldığında nar meyvesi yüzeyinden izole edilen maya suşları *Metschnikowia pulcherrima*, *Cryptococcus bestiolae*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida zeylanoides*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kluyveromyces lactis* ve *Metschnikowia* sp. türleriyle, ahududu meyvesinden izole edilen maya suşları ise *M. pulcherrima*, *A. pullulans*, *Candida* sp., *H. uvarum* ve *Metschnikowia* sp. türleri arasındaki homoloji oranı çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. API-ZYM test sistemi kullanılmış ve bunun neticesinde nar meyvesinden elde edilen maya türlerinin alkalın fosfataz, lösin arilamidaz, esteraz (C 4), esteraz lipaz (C 8), asit fosfataz, naftol-AS-BI-fosfohidrolaz enzimlerinin; ahududu meyvesinden elde edilen maya türlerinde ise Lösin arilamidaz ve β - Glukosidaz enzimlerinin yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Allice ve Campbell (1999) tarafından yapılan çalışmaya göre Rosaceae familyasına ait *Rubus* ve *Dalibarda* L. cinslerinin ITS verilerine dayanarak filogenetik açıdan farklı olduğu fakat morfolojik olarak türdeş oldukları kabul edilmektedir. Yine bu çalışmada filogenetik ağaca bakıldığında *Rubus saxatilis* ve *Rubus idaeus*'un benzer oldukları ve *Rubus* türlerinin odunsudan otsuya geçişinde yaprakların da bileşik yaprakтан basit yaprağa doğru evrimleştiği ortaya konulmuştur.

Işık (2014) tarafından *Rubus* L. cinsi *Glandulosis* subseksiyonunda yer alan dört taksona (*R. tereticaulis*, *R. hirtus*, *R. platyphyllos* ve *R. caucasicus*) ait anatomik, morfolojik, palinolojik, fitokimyasal, sitogenetik, genetik ve ekolojik özellikler çalışılmıştır. İklimsel olarak bakıldığında *R. caucasicus* ve *R. platyphyllos*'un, yayılış alanlarında, diğer taksonlarla karşılaştırıldığında daha yüksek nem miktarına gereksinim duyduğu belirlenmiştir. ISSR tekniği kullanılarak yapılan DNA analizi sonucunda *R.hirtus* ve *R. platyphyllos* taksonlarının genetik olarak birbirine uzak, *R. hirtus*'un *R. tereticaulis*'e genetik olarak daha yakın olduğu görülmüştür. SEM yardımı ile *R. caucasicus* taksonuna ait polen görüntüleri alınmış ve bu taksonun trikolporat yapıda tipik Rosaceae polenlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Morfolojik çalışmalara bakıldığında ise Davis ve Meikle (1972), The Flora of Turkey and the East Egean Islands (1972) adlı eserinde tüy rengi ve boyu hakkında yeterli derecede aydınlatıcı bilgi olmadığı vurgulanmıştır. Tüy yapısı ve yoğunluğunun

Rubus taksonları için karakteristik olduğunu yaptığımız çalışma desteklemektedir.

TEŞEKKÜR

Bu makalenin FYL-2019-1010 nolu proje ile desteklenmesi sebebiyle BAP Birimi (Bilimsel Araştırma Projesi Birimi) 'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aksoy, K.P. (2013).** Rize ili sınırları içerisinde yetişen *Sorbus L. (Rosaceae)* türlerinin ekolojik, morfolojik ve anatomik incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye, 178s.
- Atamov, V. & Çobanoğlu, M. (2019).** Floristic Diversity of Handüzü Natural Park and Environs, Turkey. *KSU J. Agric Nat*, 22(Suppl 1), 84-90.
- Batan, N., Atamov, V., Ekşi, S. & Erata, H. (2018).** Contribution to the bryophyte flora of the İkizdere district (Rize, Turkey), *Phytologia Balcanica* 24(1), 9-15.
- Baykal, H., Atamov, V. & Yüksek, T. (2018).** Tunca Vadisi Tabiat Parkı ve çevresinin florası (Ardeşen-Rize / Türkiye), *Biological Diversity and Conservation*, 11(2), 9-24.
- Baykal, H. & Atamov, V. (2018).** Flora of Isırlık natural park and environs (Rize-Turkey), *OT Sistemik Botanik Dergisi*, 25(2), 151-170.
- Çobanoğlu, M. (2012).** Güneysu-Çağrankaya Arası Bölgenin Flora ve Vejetasyonu. Yüksek Lisans Tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, Türkiye, 178s.
- Davis, P.H. (1972).** Flora of Turkey and The East Aegean Island. *Edinburgh:University Press*, Edinburgh, 4, 540-41.
- Demir, E. & Atamov, V. (2019).** Galerüzü-Ceymakçur yaylaları (Çamlıhemşin / Rize) arasında kalan bölgenin florası. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(2), 201-210.
- Demir, E. (2013).** Ayder-Cemakçur (Çamlıhemşin/Rize) Yaylalarının Florası ve Yöre Ballarının Kimyasal ve Palinolojik Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 118s, 18-40.
- Eker, S. & Kolören, O. (2017).** Yabancı Otların Moleküler Teşhisinde ribozomal RNA (rRNA) internal transcribed spacer (ITS) gen bölgelerinin kullanımı. *Ordu Üniversitesi Bilim Teknik Dergisi*, 7(1), 11-21.

- Eksi, S. (2016).** *Çamlık ve Cimil Deresi (İkizdere/Rize) Çevresinin Briyofit Florası*. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 63s.
- Eminağaoğlu, Ö., Yılmaz, H., Aksoy, N., Ok, T., Fırat, M., Akyıldırım Beğen, H. & Akkemik, Ü. (2021).** Rosaceae. Şu eserde: Akkemik, Ü. (ed.). *Türkiye'nin Bütün Ağaçları ve Çaluları*. Türkiye İş Bankası Yayınları, 965-1125s.
- Gedik, Y. (2019).** *Samsun çevresinde yayılış gösteren bazı dikotil bitkilerin yaprakları üzerinde morfolojik, anatomik ve mikromorfolojik bir çalışma*. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye, 94s.
- Günay, M. (2015).** *Rubus idaeus L (Ahududu) ve Punica granatum L. (Nar) meyvelerinden izole edilen maya türlerinin moleküler düzeyde tanımlanması ve hücre dışı enzim aktivitelerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, Türkiye, 140s.
- Güner, A. (1984).** Rize Florasına Hazırlık I, Rize 'den Bitki Toplayanlar Listesi. *Doğa Bil. Derg.* 8(2), 278-281.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M.T. (2012).** *Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul. 1. Baskı, ISBN: 978-605-60425-7-7, 1290 s., 488-500.
- Güzel, M.E. (2018).** *Çeşitlilik merkezi GB Asya olan Lactucinae (Asteraceae) alt tribusunun Türkiye odaklı biyosistemik revizyonu*. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 355s.
- Haymes, K.M. (1996).** Mini-prep method suitable for a plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*, 14(3), 280-284.
- Hekimoğlu, E. (2019).** *Endemik Lathyrus undulatus Boiss. (Fabaceae) türü üzerinde morfolojik, anatomik, palinolojik ve karyolojik araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye, 59s.
- Işık, G. (2014).** *Rubus L. cinsi Glandulosi subseksiyonunun ekolojik genetiği*. Doktora Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 182s.
- Koday, Z. & Erhan, K. (2013).** Rize İlinin idari coğrafya analizi. *Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 50, 39-54.
- Kuyumcu, F. (2020).** *Rize İl Sınırları İçerisindeki Rubus L. (Rosaceae) Türlerinin Morfolojik, Mikromorfolojik ve Moleküler Sistemik Özelliklerinin Analizi*. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 86s.
- Ofluoğlu, E. (2015).** *Kaçkar Dağları Milli Parkı Sınırları İçerisinde Rhododendron L. (Ericaceae) Cinsine Ait Taksonların Moleküler Sistemik Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, 80s.
- Özer, C. (2017).** *Çamlıhemşin (Rize) yüksek dağ kesimlerindeki Trifolium L. (Fabaceae) cinsine ait bazı taksonların yem değerliliğinin (kaloriliğinin) araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 80 s.
- Polat, İ. & Göçmen, M. (2008).** Karadeniz Bölgesinden seçilen bazı kırmızı ahududu (*Rubus idaeus L.*) tiplerinin genetik farklılığının RAPD tekniği ile belirlenmesi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 185-191.
- Sarıgül, A. (2018).** *Kaçkar Dağları Milli Parkı (Rize) Sınırları İçerisindeki Eğrelti Florası ve Taksonların Morfolojik ve Ekolojik Özellikleri*. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, s. 96, 25-85.
- Süzen, A. (2017).** *Ambarlık Yaylası (Çamlıhemşin / Rize)'nin Florası ve Vegetasyonu*. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize. Türkiye, s. 160, 23-103.
- Toker, M.C. (2004).** *Bitki morfolojisi*. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, II. Baskı, Ankara, 140 s.
- URL-1, (2020).** <https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>. (7 Ocak 2020).
- URL-2, (2020).** <http://www.endmemo.com/bio/gc.php>(7 Ocak 2020).
- Vural, M., 1996.** Rize'nin Yüksek Dağ Vegetasyonu. *Turkish Journal of Botany*, 20, 83-102.