

Eskişehir İlinde Yayılış Gösteren *Mentha L.* Taksonlarında Tür Sınırlandırma Çalışmaları ve Filogenetik Analizlerinin Yapılması

Species Limitation Studies and Phylogenetic Analysis of *Mentha L.* Taxa Distributed in Eskişehir Province

Derviş Öztürk^{1*} , Kurtuluş Özgişi² , Tayfun Şengel³ ,

Betül Yılmaz Öztürk⁴ 

¹ Doç. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mahmudiye Atçılık MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Eskişehir, Türkiye

² Doç. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

³ Öğr. Gör., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Eskişehir, Türkiye

⁴ Doç. Dr., Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Eskişehir, Türkiye

* Corresponding author: dozturk@ogu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 25.05.2023
Kabul Tarihi / Accepted: 10.07.2023

Araştırma Makalesi/Research Article
DOI: 10.5281/zenodo.8238484

ÖZET

Bu çalışmada, Eskişehir ve çevresinde farklı lokalitelerden toplanan çiçekli ve çiçeksiz *Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* (L.) L., *Mentha longifolia* (L.) HUDSON subsp. *typhoides* (BRIQ.) HARLEY, *Mentha spicata* L. ve *Mentha pulegium* L. Taksonları toplanmıştır. Tür sınırlandırma çalışmaları, ITS veri setine dayalı tür sınırlandırma çalışmalarında kullanılan Tek Eşikli ve Çok Eşikli GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) metoduna göre çalışmaya konu olan *Mentha* cinsi üyeleri tespit edilmiştir. Kloroplast DNA'sına ait *rbcL* ve *matK* bölgelerinin veri setine dayalı Tek Eşikli ve Çok Eşikli GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) metoduna göre çalışılan *Mentha* taksonları belirlenmiştir. ITS veri setiyle genetik çeşitlilik çalışmaları neticesinde en yüksek ve en düşük haplotip çeşitliliği ortaya konmuştur. Popülasyon grupları arasında nötralite testleri ile Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerlerine göre anlamlı bir popülasyon grubuna rastlanmamıştır. Bu popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığını göstermektedir. 807 baz çifti uzunluğunda ki *matK* veri setine dayalı genetik çeşitlilik çalışmaları sonucunda en fazla haplotip çeşitliliği gösteren tür saptanmıştır. 555 baz çifti uzunluğunda ki *rbcL* veri setiyle genetik çeşitlilik çalışmalarında en fazla haplotip çeşitliliği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: mentha, morfoloji, DNA, ITS, Eskişehir

ABSTRACT

In this study, flowering and non-flowering *Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* (L.) L., *Mentha longifolia* (L.) HUDSON subsp. *typhoides* (BRIQ.) HARLEY, *Mentha spicata* L. and *Mentha pulegium* L. taxa were collected. Species limitation studies were determined according to the Single Threshold and Multi Threshold GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) method used in species limitation studies based on the ITS dataset. Based on the data set of the *rbcL* and *matK* regions of chloroplast DNA, the *Mentha* taxa studied according to the Single Threshold and Multi Threshold GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) method were determined. As a result of genetic

diversity studies with ITS dataset, the highest and lowest haplotype diversity was revealed. No significant population group was found among the population groups according to the neutrality tests and the FS values of Tajima's D and Fu. This shows that population groups do not move away from neutrality. As a result of genetic diversity studies based on the matK dataset, which is 807 base pairs long, the species with the highest haplotype diversity was determined. The highest haplotype diversity was determined in genetic diversity studies with the 555 base pair long rbcL data set.

Keywords: mentha, morphology, DNA, ITS, Eskişehir.

1. GİRİŞ

Ülkemiz ılıman kuşak içerisinde bulunmasından dolayı bitki çeşitliliği açısından çevresinde yer alan birçok ülkeden farklı özellikleri bulunmaktadır. Ülkemiz farklı coğrafi ve iklim yapısına sahip olması, üç gen merkezinin kesişim noktasında bulunmasından dolayı bitki türü çeşitliliği bakımından dünyada önemli bir konuma sahiptir (Arif, İ., ve Gürbüz, B., 2010). Türkiye’de doğal olarak yetişen 12.000’den fazla bitki taksonu (tür, alttür ve varyete düzeyinde) olup, bunların yaklaşık 3600 (3/1’lik oranı) endemik taksonlardan oluşmaktadır (Güner vd., 2012). Komşu ülkeler ile kıyaslandığında tür zenginliği ve endemik türler bakımından Türkiye ilk sırada gelmektedir. Türkiye’nin bu özelliği, coğrafi faktörlerin çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır.

Dünyadaki tıbbi ve aromatik bitkiler, eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Yeryüzünde bulunan bitki türü sayısının ortalama 350-400 bin arasındadır ve bu sayıya 2000 tür ilave olmaktadır (Ersöz, 2012; Byng ve Christenhusz, 2018). Ülkemiz florasında doğal olarak bulunan 10000’i aşkın bitki türünden 500 tanesi tıbbi amaçlı etkin madde içermektedir (Özel, 1999; Kendir ve Güvenç, 2010). Ticareti yapılan bitki türleri bakımından Lamiaceae familyası ilk sırayı almaktadır (Arslan ve ark. 2015). Lamiaceae familyası Dünyada 7000’den fazla taksonu içeren familyadır. (Harley, 2003; Kahraman vd., 2009; Bazarraghaa vd., 2012). Familyaya ait türler, dünyada Akdeniz iklimi gösteren bölgelerde yayılış göstermektedir (Temel, 2000). Türkiye florası, Lamiaceae familyası için önemli bir yer oluşturmakta ve bu familyaya ait Türkiye’de 45 cins, 846 tür içerisinde 240 endemik türü bulunmakta ve toplam 731 takson ile temsil edilmektedir. Ülkemizde %44,2’lik endemizm oranı ile en zengin üçüncü familya konumundadır (Davis, 1982; Güner vd., 2000, Davis, P.H., Hedge, I. C., 1975; Vural, M. ve Adıgüzel, N., 1996). Ülkemizdeki endemizm oranı % 44,2 olan bu familya, Türkiye’nin en zengin üçüncü familyasıdır (Aytaç, Z. ve Yıldız, G., 1996).

Mentha cinsi, çok yıllık nemli yerlerde yetişir ve sürünücü rizomlu, dik ya da yatık gelişen bitkilerdir. Yaprakları basit, çiçekler hermafrodit (erdişi) veya dişi çiçekler aynı (monoik) veya ayrı (dioik) bitkilerde bulunur. Yaprakçıklar oldukça küçülmüş, Taç yapraklar, aktinomorf (yıldızsı) veya hafif bilabiata (iki dudaklı), tüpsü veya çan şeklindedir. Çanak yapraklar, bilabiata, 4 loblu, üst lob geniş genelde daha belirgin. Erkek organlar, 4 adet eşit boyda, genelde taç yapraktan dışarı çıkar (Davis, 1982).

Mentha cinsinin 7 türüne (*M. spicata* L., *M. arvensis* L., *M. pulegium* L., *M. aquatica* L., *M. longifolia* L., *M. suaveolens* Ehrh., *M. piperita* L.) ait 14 takson doğal olarak Türkiye’de yetişmektedir (Davis, 1982), Şekil 1’de bazı *Mentha* cinsine ait taksonların Türkiye üzerindeki dağılımı (Aktaş, K., 2001; Telci, İ., 2001) gösterilmiştir. *Mentha* cinsinin sistematigi melezlenme oranının yüksek olmasından dolayı tamamlanamamıştır (Franz and et.al., 1983). *Mentha* cinsinin uçucu yağının % 80-85’i mentolden oluşmaktadır (Abad Farooqi, A. H., & Sharma, S., 1988, Baytop, T., 1999). Polimorfik bir yapıya sahip olmasından dolayı melezleşmeye yatkın bir taksondur (Franz, et all., 1983). Melezleşme yatkınlığına bir örnek olarak *M. longifolia* ve *M. rotundifolia*’nın melezi olan *M. spicata* melezi verilebilir (Davis, 1982)



Şekil 1. *Mentha pulegium* L. Habitat Çiçek Görüntüsü



Şekil 2. *Mentha aquatica* L. Habitat Genel Görüntüsü



Şekil 3. *Mentha longifolia* (L.) L. Habitat Çiçek Görüntüsü



Şekil 4. *Mentha spicata* L. Habitat Çiçek Görüntüsü

2. MATERYAL ve METOT

Bu retrospektif çalışma kafa travmaları isimli tez konusundan elde edilmiştir (Balevi,1992). Cerrahi olarak tedavi edilen 161 kafatası basit ÇK vakaları çalışmaya dahil edildi.

Tüm hastalar detaylı olarak muayene edildi. Pupillerin boyutu ve ışığa olan cevabı kontrol edildi. Hastaların koma durumları Glaskow koma skalası (GKS) ile değerlendirildi.

GKS da göz açma, sözel ve motor cevaplar üç ayrı bölümde puanlandırılır. Hastanın 3 ayrı muayenede aldığı puan 3-15 arasında değişir:1) 15 puan: şuur açık, 2) 13-14 puan: konfüze, 3) 8-13 puan: stupor, 4) 3-8 puan: perikoma,5) 3 puan: koma olarak kabul edilir.

Tüm hastalara ilk muayenede iki yönlü kafatası grafisi ve bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT) tetkiki yapıldı. Servikal, torakal ve lomber omurga grafileri ve akciğer grafileri çekildi. Seçilmiş vakalarda, uzun kemikler, pelvis ve kalçaların ilgili röntgen grafileri çekildi. Gerekğinde batın ve toraks ultrasonografisi yapıldı.

Tüm hastalara hemogloblin, tam kan sayımı, serum elektrolitleri, karaciğer fonksiyon testi, renal fonksiyon testi, kan şekeri, kan gruplaması ve cross match gibi rutin biyokimyasal tetkikler ve arteriyel kan gazları tetkikleri yapıldı.

Glaskow sonuç ölçeği (GSÖ) kullanılarak (Jennett,1975) (Tablo1). 18 ay sonra hastaların klinik durumu değerlendirildi Ameliyat sonrasında bir sorun olmadığı vakalar iyi sonuç olarak değerlendirildi.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Bitki Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada; Eskişehir ili ve çevresi olarak sınırlanmış olup, bu bitki örnekleri farklı lokalitelerden çiçeksiz ve çiçekli dönemlerde toplanmıştır. Örnekler aynı türün farklı lokalitelerinden toplanarak silika jel içerisinde kurutulmuş/muhafaza edilmiştir. *Mentha L.* örneklerinin morfolojik bulguları Türkiye florasında (Davis, P.H., 1975) verilen bilgilere göre yapılmıştır. Toplanan örneklerin habitatlarındaki fotoğrafları çekilmiş ve herbaryum örneği haline getirilmiştir. Moleküler analizler için yapılması planlanan çalışmalar pandemi dönemine denk gelmesi sebebiyle malzeme alımlarında gecikmeler yaşanmıştır. Bu sebeple moleküler analizlerin gerçekleştirilmesi için ek süre alınmıştır.

Her bir lokaliteden 5 er örnek toplanmıştır. 3 örnek herbaryum materyali, 1 örnek araştırma materyali ve 1 örnekte moleküler analiz için alınmıştır. Moleküler analizlerde birbirine yakın lokalitelerden yalnızca biri kullanılmıştır.

Gerçekleştirilemeyen analizler için örneklerin muhafazasında;

Örnekler araziden toplanarak silika jel içerisinde muhafaza edilerek önlemler alınmıştır.

DNA çıkarılacak örnek muhafazasında;

DNA çıkarılacak örnekler silika jel içerisinde muhafaza edilmiştir. Morfolojik inceleme yapılacak örnekler ise karton presler içerisindeki kurutma kağıdı arasına konularak araziden toplanan örneklerin içerisindeki neminin alınıp küflenmeden oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bitki örnekleri farklı lokalitelerden toplanıp teşhisleri yapıldıktan sonra ESOGU saklanmıştır.

3.2. Morfolojik İnceleme Metotları

Mentha L. örneklerinin dış morfolojik analizleri Türkiye florasında (Davis, P.H., 1975) verilen betim dikkate alınarak yapılmıştır.

İnceleme materyali olan *Mentha L.*, Mayıs ve Ağustos (2019) ayları arasında, B3 Eskişehir ve çevresinden yol kenarı, dere içi ve sulama kanalları etrafından toplanmış ve numaralandırılarak not edilmiştir. Ölçümler ve gözlemler arazi çıkışları ile habitatında izlenerek saptanmıştır. Ayrıca toplanan örnekler herbaryum örneği haline getirilmiş ve habitatlarındaki fotoğrafları da çekilmiştir.

3.3.Moleküler Analizler

3.3.1.DNA İzolasyonu, Çoğaltılması ve Sekanslanması

Araziden toplanarak silika jel içerisinde kurutulmuş/muhafaza edilen örneklerden DNA, izolasyon kiti elde edilmiştir. Elde edilen DNA miktarı ve kalitesi %1'lik agaroz jel elektroforezi sonucunda jelin UV altında görüntülenmesiyle ortaya çıkarılmıştır. İzole edilen DNA'lardan ayırıcı olabilecek gen bölgeleri PCR kiti ile çoğaltılmıştır. Bu amaçla kullanılacak ileri ve geri primerler aşağıdaki gibidir.

DNA bölgesi Primer Referans

ITS1 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' White vd., 1990

ITS4 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' White vd., 1990

matK-390F 5' CGATCTATTCATTCAATATTTTC3' Wattoo vd., 2016

matK-1326R 5' TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT 3' Wattoo vd., 2016

rbcl-BF 5' ATGTCACCACAAACAGAAAC 3' Wattoo vd., 2016
rbcl-724R 5' TCGCATGTACCTGCAGTAGC3' Wattoo vd., 2016

3.4. Tür Sınırlandırma Çalışmaları

Moleküler veri setinde dizilerinin doğrudan karşılaştırması yapılarak doğru bir şekilde tanımlanma oranı ölçümlerinde TAXONDNA (Meier et al., 2006) yazılımında bulunan Species Identifier programı kullanılmıştır. Tür sınırlarını çizebilmek ve gen bölgelerine ait veri setinin kaç türü yansıttığını belirlemek için İstatistiksel Pasimoni Network (Clement et al., 2000) ve ağaca dayalı metotlardan Genel Karma Yule Koalesent Modeli (Generalized Mixed Yule Coalescent, GMYC) (Fujisawa et. al., 2013) kullanılmıştır. İstatistiksel parsimoni network (TCS) yaklaşımı için haplotip networkleri, TCS1.21 (Clement et al., 2000) programında %90-99 cut-off aralığında oluşturulmuştur. GMYC modeli (Fujisawa et. al., 2013) için NJ ağacı MEGA6 (Tamura et al., 2013) programında K2P modeli altında 1000 bootstrap replikası ile inşa edilmiştir. Bayesian çıkarsamalı gen ağaçları ise BEAST v1.8.2 (Drummond et al., 2012) program paketi (BEAST, BEAuti, Tracer, TreeAnnotator) ile gerçekleştirilmiştir. Bayesian tabanlı analizlerde kullanılacak olan nükleotid süstitüsyon modeli AIC (Akaike infomation criterion) ve BIC (Bayesiyan Information Criterion) kullanılarak jModelTest 0.1.1. (Posada, 2008) ve PartitionFinder (Lanfear et al., 2013) programlarında belirlenmiş ve elde edilen Bayesian ağacı R istatistik programı ile yazılmış SPLITS (Lanfear et al., 2012) paketi kullanılarak tür sınırları GMYC modeli (Fujisawa et al., 2013) altında tek ve çok eşikli metot (Drummond, 2012; Ezard et al., 2009) kullanılarak belirlenmiştir. GMYC modeli altında belirlenen taksonların geçerliliğini test etmek için Geneious 6.0.6 (Kearse et al, 2012) programında bulunan tür sınırlandırma eki (Species Delimitation Plugin, SDP) Masters, 2011) olan P (Randomly Distinct) (Rosenberg, 2007) ve Rosenberg'in PAB değerleri (Rodrigo et al., 2008) ile tür sınırları belirlenmiştir. Ayrıca yine için Geneious 6.0.6 (Kearse et al, 2012) programında bulunan Soy Tekeli (Geneological Sorting Index, GSI) ile de GSI değerleri belirlenmiştir.

İnşa edilen tüm gen ağaçları FigTree v1.4.2 (Rambaut, 2014) programı kullanılarak düzenlenmiş ve Bootstrap ve posterior olasılık değerleri elde edilen ağaçlar üzerinde belirtilmiştir.

3.5. Genetik Çeşitlilik ve Popülasyon Genetiği

Türlere ait taksonların ve bu taksonların farklı popülasyonlarının genetik çeşitlilik hesaplamaları DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Taksonların popülasyon gruplarına ait Nükleotid çeşitliliği, değişken bölge sayısı (DB), özgün haplotip sayısı (HS), haplotip çeşitliliği (HÇ) ayrı ayrı hesaplanmıştır. Taksonların nötraliteden uzaklaşıp uzaklaşmadığı yine DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında moleküler veri setleri ayrı ayrı değerlendirilmiş ve Tajima'nın D (1989) ve Fu'nun Fs değerleri (1997) kullanılarak nötralite testi gerçekleştirilmiştir.

Popülasyon grupları arasında ikili genetic farklılaşma değerlerini belirleyen Fst parametresi DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) programı kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan Fst parametresinin istatistiksel anlamlılığı 1000'li permutasyon testi ile sınanmıştır.

4. SONUÇLAR

Eskişehir ve çevresinde Mentha örneği toplanan lokaliteler aşağıda listelenmiştir.

- Camili Yayla Yolu 15. Km Bozüyük/Bilecik, N 39° 50' 118.5" E 29° 50' 16.6", 1293 m., 12.09.2021
- İncik köyü Merkez/Kütahya, N 39° 32' 32.7" E 30° 15' 17.1", 979 m., 08/10/2021.

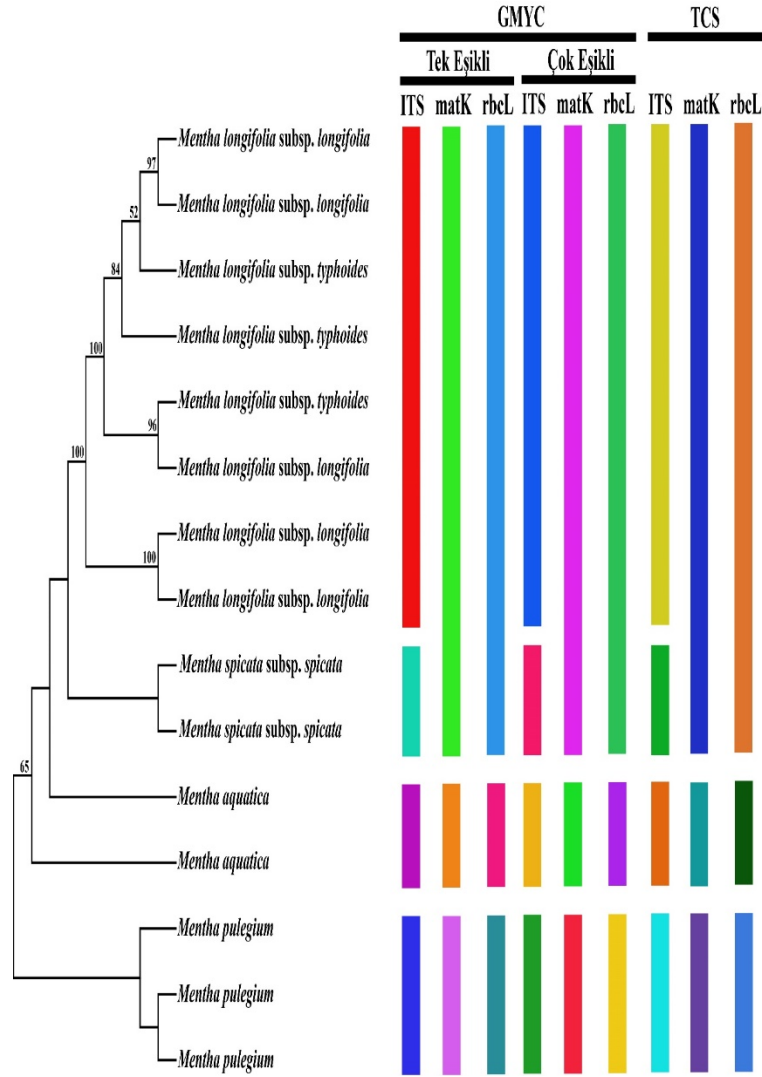
- Sögüt köyü Merkez/Kütahya, N 39° 26' 59.2" E 30° 10' 9.4", 1058 m., 08/10/2021.
- Bayat göleti kenarı, Bayat/Afyon, N 38° 58' 25.3" E 30° 54' 16.8", 1105 m., 08/10/2021.
- Porsuk çayı kenarı, Kızılınler, Merkez/Eskişehir, N 39° 41' 57.0" E 30° 22' 55.9", 885 m., 07/07/2020.
- Porsuk çayı kenarı, Cumhuriyet Köyü, Merkez/Eskişehir, N 39° 49' 37.1" E 30° 37' 46.6", 880 m., 09/07/2020.
- Pessinus Mah., açık alan, Sivrihisar/Eskişehir, N 39° 19' 53.8" E 31° 34' 57.8", 850 m., 25/07/2020.
- Kör Hasan Mah., su kenarı, Çifteler/Eskişehir, N 39° 23' 23,3" E 31° 11' 53.1", 900 m., 04/09/2021.
- Balıklıdamı su kenarı, Ahiler köyü, Sivrihisar/Eskişehir, N 39° 10' 34.9" E 31° 37' 7.9", 822 m., 04/09/2021.
- Balıklıdamı su gözü, Sivrihisar/Eskişehir, N 39° 10' 20.8" E 31° 36' 46.3", 800 m., 04/09/2021.
- Sarı su deresi, inönü yolu, Oklubalı girişi, köprü yanı, İnönü/Eskişehir, N 39° 49' 34.7" E 30° 16' 51.8", 816 m., 05/09/2021.
- Pınarbaşı tesisleri, su kenarı, İnönü/Eskişehir, N 39° 48' 48.7" E 30° 7' 6.6", 840 m., 05/09/2021.
- Porsuk çayı, Kızılınler-Uluçayır arası, su kenarı, Merkez/Eskişehir, N 39° 39' 7.3" E 30° 23' 17.10", 827 m., 05/09/2021.
- Kızılınler girişi, Porsukçayı su kenarı, Merkez/Eskişehir, N 39° 42' 54.3" E 30° 25' 17.4", 818 m., 05/09/2021.
- Demirli Mah. Girişi, su kenarı, Odunpazarı/Eskişehir, N 39° 34' 13.3" E 30° 19' 11.2", 971 m., 05/09/2021.
- Sarıcakaya yolu, Şöforler çeşmesi Mevkii, su kenarı, N 39° 56' 56" E 30° 40' 20.4", 1156 m., 09/09/2021.
- Sarıcakaya-Nallıhan yolu, Düzköy sapağı, Sakarya nehri kenarı, Sarıcakaya/Eskişehir, N 40° 5' 24.1" E 30° 50' 42.7", 240 m., 09/09/2021.
- Mihaliççık – Nallıhan Yolu, Sarıyar Köprüsü, Sakarya nehri kenarı, N 40° 3' 28.3" E 31° 24' 19", 385 m., 09/09/2021.
- Gürleyik Şelalesi, su kenarı, Mihaliççık/Eskişehir, N 39° 59' 17.6" E 31° 22' 2.2", 714 m., 09/09/2021.
- Sorkun Mah., Su kenarı, Mihaliççık/Eskişehir, N 39° 55' 38.2" E 31° 24' 1.2", 1224 m., 09/09/2021.
- Alpu-Mihaliççık Yolu, Kayı Mah. 2 km, su kenarı, Mihaliççık/Eskişehir, N 39° 50' 46.2" E 31° 24' 11.36", 1065 m., 09/09/2021.
- Alpu-Mihaliççık Yolu, Aşağı Dudaş Mah., Doğanoglu arası, Beylikova/Eskişehir, N 39° 49' 20.8" E 31° 13' 7.1", 882 m., 09/09/2021.
- Eskişehir-Bursa Yolu, Değirmen deresi, su kenarı, Bozüyük/Bilecik, N 39° 54' 51" E 29° 59' 43", 725 m., 12/09/2021.

- Çam Yayla Mah.- Aksuteke Mah. Arası, Yol kenarı, Bozüyük/Bilecik, N 39° 55' 21.4" E 29° 55' 27.2", 1283 m., 12/09/2021.
- Çam Yayla Mah.- Aksuteke Mah. Arası, Orman içi, Bozüyük/Bilecik, N 39° 55' 56.9" E 29° 51' 18.9", 1189 m., 12/09/2021.
- Sarıdayı Mah. Girişi, Bozüyük/Eskişehir, N 39° 56' 7.1" E 29° 49' 16.5", 1054 m., 12/09/2021.
- Ormangüzle Mah. yolu, Bozüyük/Eskişehir, N 39° 52' 49.8" E 29° 54' 36.2", 950 m., 12/09/2021.
- Erikli Mah. – Atatürk Köşkü arası, Orman içi, Bozüyük/Eskişehir, N 39° 51' 22.1" E 29° 49' 47.6", 1337 m., 12/09/2021.

4.1. Tür Sınırlandırma Çalışmaları

PZR reaksiyonu sonrası çekirdek DNA'sının ITS1, ITS2 ve 5.8s rRNA (ITS) bölgeleri ve kloroplast DNA'sına ait ribulose-bisphosphate carboxylase (*rbcL*) ve Maturase K (*matK*) bölgeleri sekanslama işlemine tabi tutulmuştur. Proje kapsamında incelenen *Mentha* cinsi üyelerinin sekanslanma sonrası elde edilen .abi formatındaki sekansların hizalama işlemi Codon Code Aligner (CodonCode Corporation) programı ile gerçekleştirilmiştir. İkili hizalama işlemi tamamlanan sekanslar daha sonra MEGA v.6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) programı kullanılarak çoklu hizalama işlemine tabi tutulmuştur. Hizalama işlemi sonucu ITS bölgesinin 742 bp. (681 bp. korunmuş; 61 bp. istatistiksel olarak anlamlı) uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir. Kloroplast DNA'sına ait *rbcL* bölgesinin 555 bp. (550 bp. korunmuş; 5 bp.' si istatistiksel olarak anlamlı) ve *matK* bölgesinin ise 807 bp. (797 bp. korunmuş; 10 bp.' si istatistiksel olarak anlamlı) uzunluğunda olduğu tespit edilmiştir.

Tür sınırlandırma çalışmaları gerçekleştirilmeden önce ultrametrik filogenetik ağaç BEAGLE kütüphanesi (Ayres vd. 2012) kullanılarak BEAST 1.10 (Bayesian evolutionary analysis sampling trees, Suchard vd. 2018) programı kullanılarak belirlenmiştir. Belirtilen analize başlamadan önce her iki DNA bölgesi (ITS ve *trnL-F*) için uygun mutasyon modelinin belirlenmesi için Mega 5 (Tamura vd., 2011) programı kullanılmıştır. Uygun mutasyon modeli belirlemek için Akaike Information Criterion (AIC) kullanıldı ve her iki veri seti için mutasyon modeli olarak GTR + G seçilmiştir.



Şekil 5. Çalışılan *Mentha* üyelerinin filogenetik ilişkisini gösteren, ITS; *rbcL* ve *matK* veri setlerine dayalı ultrametrik filogenetik ağaç. Tek, Çok Eşikli GMYC ve TCS metodlarına dayalı tür sınırlandırma çalışmaları sonucu elde edilen aynı taksonomik birimler aynı renkli; farklı taksonomik birimler ise farklı renkli olacak şekilde ağaç üzerinde belirtilmiştir. Nodlardaki sayısal değerler 50 ve üzeri bootstrap değerlerini belirtmektedir.

4.2. Genetik Çeşitlilik ve Popülasyon Genetiği

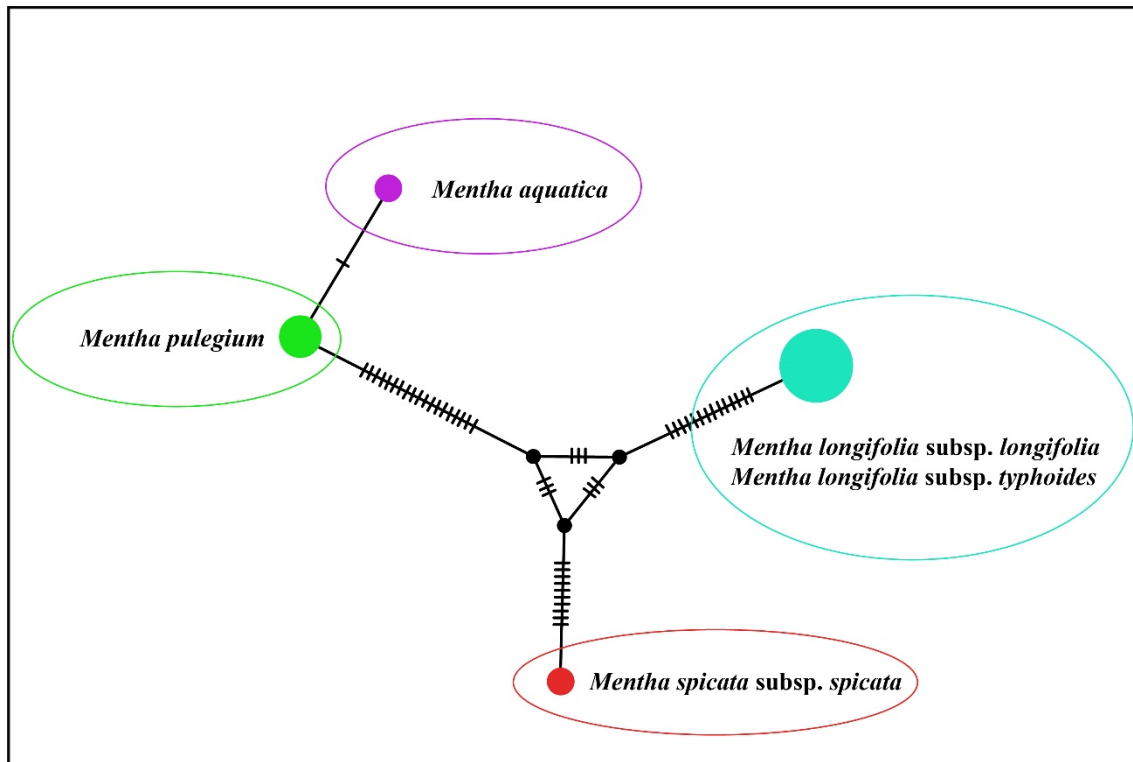
Mentha üyelerinin genetik çeşitliliğini saptayabilmek için ITS; *rbcL* ve *matK* veri setleri analiz edilmiştir. Grupların nükleotid çeşitliliği (π), özgün haplotip sayısı (HS), değişken bölge sayısı (DB) ve haplotip çeşitliliği (HÇ) hesaplanmıştır. Nükleotid dizileri arasındaki farklılaşmada nötral süreçlerden bir uzaklaşma olup olmadığını belirleyebilmek için Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerleri hesaplanmıştır (Tajima, 1989; Fu, 1997).

Tajima'nın D testi polimorfik pozisyonların frekanslarındaki dağılımları özetlemektedir. Elde edilen verilere göre anlamlılık sergileyen negatif değerler popülasyonlar için nadir değişkenleri, pozitif değerler ise orta düzeyde frekansa sahip pozisyonların fazla bulunduğunu göstermektedir. Bu sebeple negatif D değeri son dönemde gözlenen bir pozitif seçilime işaret ederken pozitif D değeri popülasyon yapısının varlığına göstermektedir (Pybus ve Shapiro, 2009). Çalışmada elde edilen verilere göre popülasyon grupları arasında gerçekleştirilen nötralite testleri sonucunda Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerleri açısından anlamlı bir popülasyon grubu gözlenmemiştir (Çizelge 1). Bu sonuç popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığını göstermektedir.

Çizelge 1. ITS verisi kullanılarak hesaplanan genetik çeşitlilik indeksleri ve nötralite testleri (Tajima'nın D'si, Fu'nun Fs'si)

Tür/Kompleks	N	SU	DB	HS	HÇ	π	D	Fs
<i>M. longifolia</i> subsp. <i>longifolia</i>	3	742	61	1	0.81578	0.0456	0.46853	0.13802
<i>M. pulegium</i>	3	742	61	1	0.71227	0.00204	0.36500	0.05872
<i>Mentha</i> <i>longifolia</i> subsp. <i>typhoides</i>	3	742	61	0	0.60527	0.03290	0.71463	0.67723
<i>M. aquatica</i>	2	742	61	1	0.66210	0.00371	0.45300	0.48176
<i>M. spicata</i>	2	742	61	1	0.52380	0.03512	0.74550	0.21415

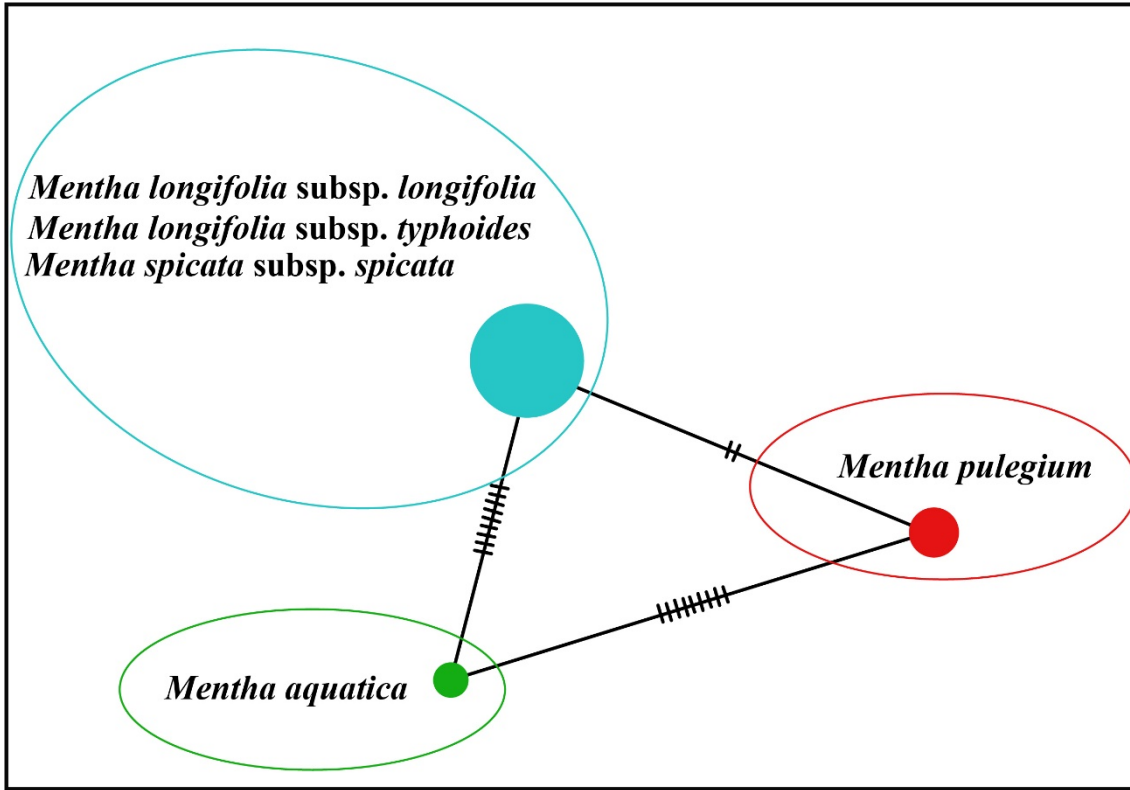
N=toplam sekans sayısı; SU=sekans uzunluğu; DB= değişken bölge sayısı; HS=Haplotip sayısı; HÇ=Haplotip çeşitliliği; π =nükleotid çeşitliliği.



Şekil 6. ITS veri setine dayalı oluşturulan haplotip şebekesi.

807 baz çifti uzunluğunda *matK* veri setine dayalı genetik çeşitlilik çalışmaları sonucunda ise en fazla haplotit çeşitliliğinin (0.82000) *M. longifolia* subsp. *longifolia* taksonunda olduğu görülmektedir. İkinci sırada *M. pulegium* türü (0.70825) yer alırken *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* taksonlarının *matK* veri setine dayalı haplotit çeşitliliğinin sıfır (0.0000) olduğu bulunmuştur (Çizelge 2). ITS veri setine benzer şekilde *matK* veri setine dayalı analizler neticesinde de Tajima'nın D ve Fu'nun FS

değerleri açısından popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığı belirlenmiştir (Çizelge 2). Oluşturulan haplotip şebekesi Şekil 7’de verilmiştir.



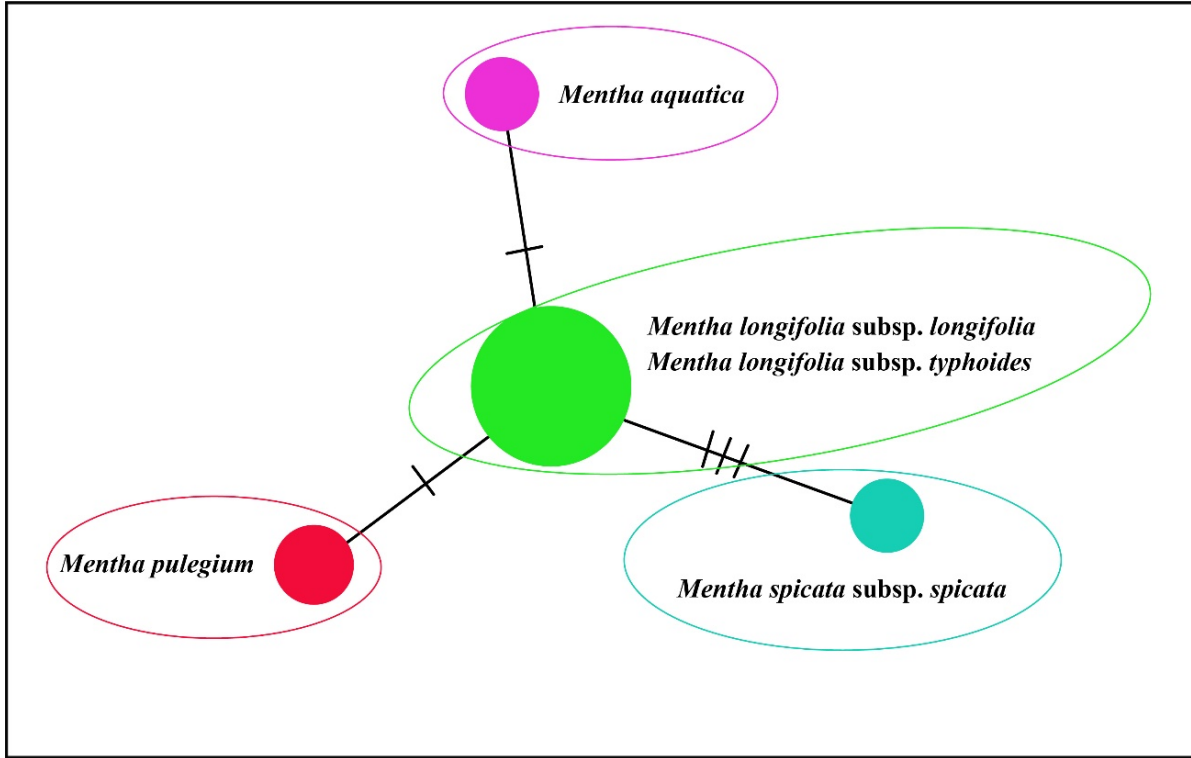
Şekil 7. *matK* veri setine dayalı oluşturulan haplotip şebekesi.

555 baz çifti uzunluğunda ki *rbcL* veri setine dayalı genetik çeşitlilik çalışmaları neticesinde en fazla haplotip çeşitliliğinin yine (0.87200) *M. longifolia* taksonunda olduğu görülmektedir. İkinci sırada da diğer veri setlerinde olduğu gibi *M. pulegium* türü (0.70254) yer alırken *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* taksonlarının *rbcL* veri setine dayalı haplotip çeşitliliğinin en düşük (0.43520) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). ITS ve *matK* veri setlerine benzer şekilde *rbcL* veri setine dayalı analizler neticesinde de Tajima’nın *D* ve *F_s*’nin *F_s* değerleri açısından popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığı görülmektedir (Çizelge 3). Oluşturulan haplotip şebekesi Şekil 8’de verilmiştir.

Çizelge 3. *rbcL* verisi kullanılarak hesaplanan genetik çeşitlilik indeksleri ve nötralite testlerine (Tajima’nın *D*’si, *F_s*’nin *F_s*’si) ait sonuçlar.

Tür	N	SU	DB	HS	HÇ	π	D	F _s
<i>M. longifolia</i>	3	555	5	1	0.87200	0.0037	0.94310	0.75020
<i>M. pulegium</i>	3	555	5	1	0.70254	0.02430	0.13500	0.07580
<i>M. aquatica</i>	2	555	5	1	0.68450	0.01500	0.25070	0.26850
<i>M.spicata</i>	2	555	5	1	0.47500	0.02574	0.60180	0.40450
<i>Mentha longifolia</i> subsp. <i>typhoides</i>	3	555	5	0	0.43520	0.00158	0.54550	0.38590

N=toplam sekans sayısı; SU=sekans uzunluğu; DB= değişken bölge sayısı; HS=Haplotip sayısı; HÇ=Haplotip çeşitliliği; π =nükleotid çeşitliliği.



Şekil 8 . *rbcL* veri setine dayalı oluşturulan haplotip şebekesi.

Çalışma sonucunda, Eskişehir ve çevresinde farklı lokalitelerden toplanan çiçekli ve çiçeksiz *Mentha* L. toplanmıştır. Bunlar; *Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* (L.) L., *Mentha longifolia* (L.) HUDSON subsp. *typhoides* (BRIQ.) HARLEY, *Mentha spicata* L. ve *Mentha pulegium* L. taksonlarıdır. Türkiye haritası üzerindeki grid sistemine göre yayılış alanları, bulunduğu iller, çiçeklenme dönemleri, habitat, yükseklik, endemiklik durumu ve taksonomik hiyerarşisi belirtilmiştir. Ayrıca toplanan örnekler lokaliteler belirlenmiş ve herbaryum örneği haline getirilerek habitatlarındaki fotoğrafları da çekilmiştir.

Mentha L. örneklerinden elde edilen genomik DNAlar ile barkodlama analizi yapmak için *matK*, ITS1 ve ITS2 bölgeleri incelenmiştir.. Elde edilen veriler; biyoinformatik programlar ve genetik bilgi veri bankaları ile kıyaslanarak analiz edildi. Böylece tür içi ve türler arası ilişkilerin ortaya konmuştur. Araziden toplanarak silika jel içerisinde kurutulmuş/muhafaza edilen örneklerden DNA, izolasyon kiti elde edilerek DNA miktarı ve kalitesi %1'lik agaroz jel elektroforezi sonucunda jelin UV altında görüntülenmesiyle ortaya çıkarılmıştır. İzole edilen DNA'lardan ayırıcı olabilecek gen bölgeleri PZR kiti ile çoğaltılmıştır. Tür sınırlandırma çalışmaları, ITS veri setine dayalı tür sınırlandırma çalışmalarında kullanılan Tek Eşikli ve Çok Eşikli GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) metoduna göre çalışmaya konu olan *Mentha* cinsi üyeleri *M. aquatica*; *M. pulegium*; *M. longifolia*; *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* ve *M. spicata* olmak üzere beş farklı takson içermektedir.

Kloroplast DNA'sına ait *rbcL* ve *matK* bölgelerinin veri setine dayalı Tek Eşikli ve Çok Eşikli GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) metoduna göre çalışılan *Mentha* üyelerinden *M. longifolia*; *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* ve *M. spicata* tek bir taksonu temsil ederken *M. aquatica* ve *M. pulegium* türleri birbirlerinden ve diğer taksonlardan farklı olarak iki ayrı OTU (Operational Taxonomic Unit)'yu temsil etmektedir.

ITS veri setine dayalı en yüksek haplotip çeşitliliği (0.81578) *M. longifolia* taksonunda olduğu gözlemlenmiştir. Haplotip çeşitliliği açısından bu taksonu 0.71227 ile *M. pulegium* türü izlemektedir.

En düşük haplotip çeşitliliği (0.52380) ise *M. spicata* türüdür. Oluşturulan haplotip şebekesi Şekil 6'da verilmiştir. Bu çalışmada Tajima'nın D testi polimorfik pozisyonların frekanslarındaki dağılımları belirlemiştir. Elde edilen sonuçlarda anlamlılık sergileyen negatif değerler popülasyonlarda nadir değişkenleri belirlerken pozitif değerlerde orta düzeyde frekansa sahip pozisyonların fazla bulunduğunu göstermiştir. Bu sebeple negatif D değeri hızlı bir büyüme sergileyen popülasyona işaret ederken, pozitif D değeri popülasyon yapılanmasının varlığına işaret etmektedir (Pybus ve Shapiro, 2009). Çalışma kapsamında popülasyon grupları arasında gerçekleştirilen nötralite testleri sonucunda Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerlerine göre anlamlı bir popülasyon grubu gözlenmemiştir. Bu durum popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığını belirtmektedir.

807 baz çifti uzunluğunda bulunan *matK* veri setine dayalı genetik çeşitlilik çalışmaları sonucunda ise en fazla haplotip çeşitliliğinin (0.82000) *M. longifolia* taksonunda olduğu görülmektedir. İkinci sırada *M. pulegium* türü (0.70825) yer alırken *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* taksonlarının *matK* veri setine dayalı haplotip çeşitliliğinin sıfır (0.0000) olduğu belirlenmiştir. ITS veri setine benzer şekilde *matK* veri setine dayalı analizler sonucunda da Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerleri açısından popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığı görülmüştür. 555 baz çifti uzunluğunda ki *rbcL* veri setine dayalı genetik çeşitlilik çalışmaları sonucunda en fazla haplotip çeşitliliğinin yine (0.87200) *M. longifolia* taksonunda olduğu görülmektedir. İkinci sırada da diğer veri setlerinde olduğu gibi *M. pulegium* türü (0.70254) yer alırken *Mentha longifolia* subsp. *typhoides* taksonlarının *rbcL* veri setine dayalı haplotip çeşitliliğinin en düşük (0.43520) olduğu tespit edilmiştir. ITS ve *matK* veri setlerine benzer şekilde *rbcL* veri setine dayalı analizler sonucunda da Tajima'nın D ve Fu'nun FS değerleri bakımından popülasyon gruplarının nötraliteden uzaklaşmadığı belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 202047D17 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abad Farooqi, A. H., & Sharma, S. (1988). Effect of growth retardants on growth and essential oil content in Japanese mint. *Plant growth regulation*, 7, 39-45.
- Aktaş, K. (2001). Bazı Lamiaceae (Labiatae) türleri üzerinde taksonomik bir araştırma (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Arif, İPEK., & GÜRBÜZ, B. (2010). Türkiye florasında bulunan *Salvia* türleri ve tehlike durumları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2), 30-35.
- Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., & Gümüşçü, A. (2015). Tıbbi aromatik bitkiler üretiminde değişimler ve yeni arayışlar. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi*, 12, 16.
- Arslan, Y., Katar, D., & Subaşı, İ. (2010). Ankara ekolojik koşullarında Japon nanesi (*Mentha arvensis* L.) bitkisinde uçucu yağ ve bileşenlerinin ontogenetik varyabilitesinin belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2010(2), 39-43.
- Aytaç, Z., & Yıldız, G. (1996). A new record for the Flora of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 20(4), 385-387.
- Başer, K. H. C., Kirimer, N., & Duman, H. (1997). Composition of the essential oil of *Micromeria dolichodon* PH Davis. *Flavour and fragrance journal*, 12(4), 289-291.

- Baytop, T., & Mathew, B. (1984). Bulbous plants of Turkey. Batsford in association with the Alpine Garden Society.
- Baytop, T. (1999). Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bazarragchaa B., Myoung L.S., Yuon L.H., (2012). "Pollen Morphology of the Family Lamiaceae in Mongolia", Journal of Korean Nature 5(2), 169-179.
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant science, 161(5), 839-851.
- Byng, J. W., Christenhusz, M. M. (2018). Introducing The Global Flora, a global series of botany. The Global Flora. 1-2
- Çalışkan, T., & Özgüven, M., (2018). Mentha Arvensis Var. Piperascens (L.) Holmes'te Ontogenetik Varyabilite Ve Moleküler Karakterizasyon.
- Çatak, E., & Atalay, A. (2022). Lamiaceae (Labiatae)(Ballıbabagiller) Familyası'nın Ekonomik Ve Tıbbi Değerleri. Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences, 9(20), 150_157-150_157.
- CBOL Plant Working Group, (2009). A DNA barcode for land plants. PNAS, 31, 12794–12797
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies, Molecular Ecology, 9: 1657-1659.
- Davis, P. H. , (1965-1988). Flora of Turkey the East Aegean Islands Volume I-X, Edinburg University Press, Edinburg.
- Demirez, M. (2013). Nanenin fitoterapi açısından değerlendirilmesi (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Doğan, E., (2019). Biyolojik çeşitlilik ve odun dışı orman ürünleri veri tabanı (biyod-Amasya Orman Bölge Müdürlüğü örneği) (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü),
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut, A., (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7, Molecular Biology And Evolution, 29, 1969-1973.
- Ekim, T. , Koyuncu, M. , Vural, M. , Duman, H. , Aytaç, Z. , Adıgüzel N. , (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Türkiye Tabiatı Koruma Derneği ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ankara.
- Ersöz T. (2012). Bitkisel İlaçlar ve Gıda Takviyeleri İle İlgili Genel Yaklaşım ve Sorunlar. MİSED. 27-28 (11-21).
- Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, Molecular Biology and Evolution, 30, 2725-2729.
- Ezard, T., Fujisawa, T., Barraclough, T.G. (2009). splits: SPecies' Limits by Threshold Statistics R package version 10-14/r31 <http://R-ForgeR-project.org/projects/splits/>.
- Franz, C., Hölzl, J., Ceylan, A., & Vömel, A. (1983). Influence Of The Growing Site On The Quality Of Menthapiperita-L.-Oil. In IV International Symposium on Spice and Medicinal Plants 144 (pp. 145-150).
- Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147(2), 915-925.
- Fujisawa, T., Barraclough, T.G. (2013). Delimiting Species Using Single-Locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated.

- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. (edlr.) (2012). Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalı Derneği Yayını, Flora Dizisi 1, İstanbul
- Harley, R. M., & Brighton, C. A. (1977). Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 74(1), 71-96.
- Harley, R. M., 2003. "Validation of the Name *Lamioideae* (*Labiatae*)", *Kew Bulletin*, 58(3), 765-766.
- Hedge, I. C., & Davis, P. H. (1975). The Flora of Turkey: past, present, and future. *Candollea*.
- Heywood, V. H. (1978). *Flora Europaea: notulae systematicae ad floram Europaeam spectantes: No. 20*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 76(4), 297-384.
- Hilu, K. W., & Liang, G. (1997). The *matK* gene: sequence variation and application in plant systematics. *American journal of botany*, 84(6), 830-839.
- Kahraman, A., Celep, F. Doğan, M., (2009). "Morphology, Anatomy and Palynology of *Salvia indica* L. (*Labiatae*)", *World Applied Sciences Journal*, 6(2), 289-296.
- Kalaycıoğlu, A., & Öner, C. (1994). Bazı bitki ekstraksiyonlarının antimitojenik etkilerinin Amest-Salmonella test sistemi ile araştırılması. *Tr. J. Botany*, 18, 117-122.
- Karamenderes, C., Karabay, N. Ü., & Zeybek, U. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of some *Achillea* L. species in Turkey. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 44(3).
- Kendir, G. ve Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30(1), 49-80.
- Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A. and Janzen, D.H., (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 8369–8374.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W., Guindon, S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses, *Molecular Biology and Evolution*, 29 (6):1695-1701.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Metcalf, C. R., & Chalk, L. (1972). *Labiatae*. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2, 1041-1053.
- Nakipoğlu, M., & Otan, H. (1992). Tıbbi bitkilerin flavonitleri. *Anadolu, J. of AARI*, 4(1), 70-93.
- Özcan, İ. İ., Arabacı, O., & Öğretmen, N. G. (2013). Lavanta (*Lavandula hybrida*)’nın köklenmesi üzerine farklı hormon dozları ve köklendirme ortamlarının etkisi. *V. Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı*, 6(09), 529.
- Özel, A., Özgüven, M. (1999). Harran Ovası Koşullarında Farklı Dikim Zamanlarının Bazı Nane (*Mentha* spp.) Tiplerinin Verim ve Bazı Tarımsal Karakterlerine Etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 23, Ek Sayı 4, 921-928.
- Özgüven, M., & Tansi, S. (1998). Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L. as influenced by ecological and ontogenetical variation. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22(6), 537-542.
- Özörgücü, B., Gemici, Y., Türkan, İ., (1991). Karşılaştırmalı Bitki Anatomisi, Ege Üniversitesi, Bornova, İzmir.
- Piccaglia, R., Marotti, M., Giovanelli, E., Deans, S. G., & Eaglesham, E. (1993). Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. *Industrial crops and Products*, 2(1), 47-50.

- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Rambaut, A., (2014). FigTree v1.4.2, <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/FigTree/>, 2014.
- Rodrigo, A.G., Bertels, F., Heled, J., Noder, R., Shearman, H., Tsai, P. (2008) The perils of plenty: what are we going to do with all these genes?, *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Series B, Biological Sciences*, 363, 3893-3902.
- Rosenberg, N.A. (2007). Statistical tests for taxonomic distinctiveness from observations of
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., & Leblebici, E. (1995). Tohumlu bitkiler sistematigi. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi*, 116, 394.
- Singh, M. K., & Singh, B., (2019). The Effects of Degenerated Carbohydrates on Aggregate Development, Physiological, and Pure Characteristics in Various Mentha Species: A Study.
- Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., & Gebre-Mariam, T. (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 168-175.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular
- Wattoo, J. I., Saleem, M. Z., Shahzad, M. S., Arif, A., Hameed, A., & Saleem, M. A. (2016).
- Telci, İ. (2001). Farklı nane (*Mentha spp.*) klonlarının bazı morfolojik, tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma.
- Temel, M., (2000). “Batı Anadolu Bölgesinde Yayılış Gösteren *Origanum L.* Türleri Üzerinde Biyosistemik Çalışmalar”, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD (Doktora Tezi), Eskişehir.
- Verpoorte, R., van der Heijden, R. T. J. M., Ten Hoopen, H. J. G., & Memelink, J. (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology letters*, 21, 467-479.
- Vonderbank, H. (1951). Antibiotics exclusive of penicillin; 3rd progress report 1949-50. *Arzneimittel-Forschung*, 1(3), 131-140.
- Vural, M., & Adıgüzel, N. (1996). A new species from Central Anatolia: *Salvia aytachii* M. Vural et N. Adıgüzel (Labiatae). *Turkish Journal of Botany*, 20(6), 531-535.
- Yetişen, B., (2011). Türkiye'nin Farklı Lokasyonlarına Ait *Mentha spicata L.* Türünde Morfolojik, Anatomik Çalışmalar, Ege Üniv. Fen Bil. Ens. Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- TUBİVES, 2013. “Türkiye Bitkileri Veri Sistemi”.,
<http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=220>, Son erişim tarihi: 22 Şubat 2023.