

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

TRİGONELLA L. (FABACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN DNA
BARKODLAMA VERİLERİNİN İNCELENMESİ VE FİLOGENETİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yudum YELTEKİN

HAZİRAN, 2022

UŞAK

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

***TRİGONELLA* L. (FABACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN DNA
BARKODLAMA VERİLERİNİN İNCELENMESİ VE FİLOGENETİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yudum YELTEKİN

UŞAK, 2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Yudum YELTEKİN



**TRIGONELLA L. (FABACEAE) CİNSİNE AİT TÜRLERİN DNA
BARKODLAMA VERİLERİNİN İNCELENMESİ VE FİLOGENETİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Yudum Yeltekin

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı**

Haziran 2022

ÖZET

Fabaceae familyasına ait olan *Trigonella* cinsi Dünya’da yaklaşık 135 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye’de endemizm oranı oldukça yüksek olan *Trigonella* cinsinin taksonomisinde, cinsin geniş coğrafik dağılıma sahip olması ve buna bağlı morfolojik karakterlerdeki yetersizlik sebebiyle problemler bulunmaktadır. DNA barkodlama yöntemi, türlerin filogenetik ilişkilerinin ve taksonomik statülerinin anlaşılabilir var olan problemlerin çözümüne katkı sağlayan önemli moleküler yaklaşımlardan birisidir. Bu amaçla nükleer ve kloroplast DNA’ya ait bölgeler filogenetik ilişkilendirme için kullanılmaktadır. Bu çalışmada NCBI (National Centre of Biotechnology Information) veri tabanında *Trigonella* cinsine ait var olan bütün barkod bölgelerinin sekans bilgileri, cinsin taksonomisi için kullanıldı. Bu bölgelerden nükleer DNA’ya ait olan *ITS1-ITS2*, *GA3ox1* ve kloroplast DNA’ya ait *matK*, *rbcL*, *trnL-trnF* ve *psbA-trnH* ya ait sekans bilgileri Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) programında Maximum Parsimony methodu kullanılarak filogenetik açıdan değerlendirildi. Bu kapsamda *Trigonella* cinsine ait *ITS1-ITS2*, *matK* ve *psbA-trnH* bölgelerinin olumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : *Trigonella*, Fabaceae, DNA Barkodlama, Maximum Parsimony
Sayfa Adedi : 90
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Aykut YILMAZ

**ANALYSIS OF DNA BARCODING DATA OF SPECIES BELONGING TO THE
GENUS *TRIGONELLA* L. (FABACEAE) AND EVALUATION FROM A
PHYLOGENETIC IN POINT OF VIEW**

(M.Sc. Thesis)

Yudum Yeltekin

**UŞAK UNIVERSITY
GRADUATE EDUCATION INSTITUTE
Department of Molecular Biology and Genetics**

June 2022

ABSTRACT

The genus *Trigonella* L. belonging to the family Fabaceae is represented by about 135 species in the World. There are problems in the taxonomy of the genus *Trigonella* which has a high endemism rate in Turkey because of the wide geographical distribution and taxonomy of the genus based on morphology. DNA barcoding method is one of the essential molecular approaches in the solving of these problems, in addition to understanding the taxonomic status and phylogenetic relationships of the species. For this purpose, the regions belonging to nuclear and chloroplast DNA are commonly used for their species identification. In this study, sequence information of all existing barcode regions belonging to the genus *Trigonella* in the NCBI (National Centre of Biotechnology Information) database was used for the taxonomy of the genus. *ITS1-ITS2*, *GA3ox1* belonging to nuclear DNA and *maK*, *rbcL*, *trnL-trnF*, *psbA-trnH* belonging to chloroplast DNA from these regions were phylogenetically evaluated with the Maximum Parsimony (MP) method by using Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA). In this involve, *ITS1-ITS2*, *matK* and *psbA-trnH* regions belonging to the *Trigonella* genus were determined to give favorable results.

Keywords : *Trigonella*, Fabaceae, DNA Barcoding, Maximum Parsimony
Number of pages : 90
Advisor : Assoc. Prof. Dr. Aykut YILMAZ

TEŐEKKÖR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen, her daim yanımda olan danışmanım Doç. Dr. Aykut YILMAZ'a, laboratuvarı ve gÖnlÖk yaőamımda beni yalnız bırakmayan tÖm arkadaşlarıma, maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan baőtla ablam Damla YAKAR olmak Özere babam Metin YELTEKİN'e ve sevgili annem Elif YELTEKİN'e bÖtÖn samimiyetimle sonsuz teőekkÖrlerimi sunuyorum.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	viii
SEMBOL VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. FABACEAE AİLESİ.....	4
2.1. <i>TRIGONELLA</i> L. CİNSİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	5
2.1.1. <i>Trigonella</i> L. Taksonomisi	5
2.2. DNA BARKODLAMA	6
2.2.1. DNA Barkodlama Aşamaları	9
2.2.2. DNA Barkodlama Yöntemindeki Zorluklar.....	10
2.3. ÇALIŞILAN DNA BARKODLAMA BÖLGELERİ ve ÖNEMİ.....	12
2.3.1. Nükleer DNA Bölgeleri.....	12
2.3.1.1. ITS Bölgeleri.....	13
2.3.1.2. <i>GA3oxI</i> Bölgesi	14
2.3.2. Kloroplast DNA Bölgeleri	15
2.3.2.1. <i>MatK</i> Bölgesi	16
2.3.2.2. <i>rbcL</i> Bölgesi.....	17
2.3.2.3. <i>trnL-trnF</i> Bölgesi.....	18
2.3.2.4. <i>psbA-trnH</i> Bölgesi	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20

3.1. DNA SEKANSLAMASI YAPILAN BÖLGELERİN BELİRLENMESİ	20
3.2.DNA SEKANS ANALİZLERİ YAPILAN BARKODLAMA BÖLGELERİNDEKİ TÜRLERİN BELİRLENMESİ	22
3.3. HER BİR BARKODLAMA BÖLGESİ İÇİN, BELİRLENEN TÜRLERİN SEKANS ANALİZLERİ	23
3.3.1 Nükleer DNA'ya Ait Bölgelerin Sekans Analizleri	23
3.3.1.1. <i>ITS1-ITS2</i> Bölge Analizleri	23
3.3.1.2. <i>GA3ox1</i> Bölgesi Analizleri	25
3.3.2 Kloroplast DNA'ya Ait Bölgelerin Sekans Analizleri	26
3.3.2.1. <i>MatK</i> Bölgesi Analizleri	27
3.3.2.2.. <i>rbcL</i> Bölgesi Analizleri.....	28
3.3.2.2. <i>trnL-trnF</i> Bölgesi Analizleri.....	28
3.3.2.3. <i>psbA-trnH</i> Bölgesi Analizleri	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	31
4.1. BULGULAR.....	31
4.1.1. <i>ITS1-ITS2</i> Bölgelerinin Sonuçları.....	31
4.1.2. <i>GA3ox1</i> Bölgesi Sonuçları.....	38
4.1.3. <i>MatK</i> Bölgesi Sonuçları.....	45
4.1.4. <i>rbcL</i> Bölgesi Sonuçları	49
4.1.5. <i>trnL-trnF</i> Bölgesi Sonuçları.....	52
4.1.6. <i>psbA-trnH</i> Bölgesi Sonuçları	57
4.2. TARTIŞMA	59
5.SONUÇ ve ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>ITS1-ITS2</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	24
Çizelge 3.2. <i>GA3ox1</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	26
Çizelge 3.3. <i>MatK</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	27
Çizelge 3.4. <i>RbcL</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	28
Çizelge 3.5. <i>TrnL-trnF</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	29
Çizelge 3.6. <i>PsbA-trnH</i> bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları	30
Çizelge 4.1. <i>ITS1-ITS2</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler.....	32
Çizelge 4.2. Çalışılan türler ve <i>ITS1-ITS2</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler...	32
Çizelge 4.3. <i>ITS1-ITS2</i> gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları	37
Çizelge 4.4. <i>ITS1-ITS2</i> bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları	37
Çizelge 4.5. Her baz için <i>ITS1-ITS2</i> bölgesine ait nükleotid frekansları.....	37
Çizelge 4.6. <i>GA3ox1</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler	38
Çizelge 4.7. Çalışılan türler ve <i>GA3ox1</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler	39
Çizelge 4.8. <i>GA3ox1</i> gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları	43
Çizelge 4.9. <i>GA3ox1</i> gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları	44
Çizelge 4.10. Her baz için <i>GA3ox1</i> gen bölgesine ait nükleotid frekansları	44
Çizelge 4.11. <i>MatK</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler	46
Çizelge 4.12. Çalışılan türler ve <i>MatK</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler	46
Çizelge 4.13. <i>MatK</i> gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları	48
Çizelge 4.14. <i>MatK</i> gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları	49
Çizelge 4.15. Her baz için <i>MatK</i> gen bölgesine ait nükleotid frekansları	49
Çizelge 4.16. <i>RbcL</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler.....	50
Çizelge 4.17. Çalışılan türler ve <i>rbcL</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler.....	51
Çizelge 4.18. <i>RbcL</i> gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları	51

Çizelge 4.19. <i>RbcL</i> gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları	51
Çizelge 4.20. Her baz için <i>rbcL</i> gen bölgesine ait nükleotid frekansları.....	52
Çizelge 4.21. <i>TrnL-trnF</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler.....	53
Çizelge 4.22. Çalışılan türler ve <i>trnL-trnF</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler..	54
Çizelge 4.23. <i>TrnL-trnF</i> bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları.....	56
Çizelge 4.24. <i>TrnL-trnF</i> bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları.....	56
Çizelge 4.25. Her baz için <i>trnL-trnF</i> bölgesine ait nükleotid frekansları.....	56
Çizelge 4.26. <i>PsbA-trnH</i> sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler.....	58
Çizelge 4.27. Çalışılan türler ve <i>psbA-trnH</i> bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler	58
Çizelge 4.28. <i>PsbA-trnH</i> bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları.....	58
Çizelge 4.29. <i>PsbA-trnH</i> bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları	59
Çizelge 4.30. Her baz için <i>psbA-trnH</i> bölgesine ait nükleotid frekansları	59

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. DNA barkodlaması için monofilik türlerin ve barkodlama boşluğunun gerekliliği (Besse ve ark., 2020)	11
Resim 2.2. IGS ve ITS bölgelerinin konumu ve çoğaltılması için sıklıkla kullanılan primerler (Kelch ve Baldwin, 2003)	13
Resim 2.3. Nükleer ribozomal RNA genleri arası ITS bölgelerinin yapısı ve primerleri (Besse, 2021).	14
Resim 2.4. <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>GA3ox1</i> geni ve T-DNA ekleme mutant çizgileri (Mitchum ve ark., 2006)	15
Resim 2.5. <i>Medicago sativa</i> komple kloroplast genom haritası (Tao ve ark., 2016)	16
Resim 2.6. MaturaseK (<i>matK</i>) gen bölgesinin şematik gösterimi (Hürkan, 2017)	17
Resim 2.7. <i>rbcL</i> gen bölgesinin yapısı ve karşılık gelen primerlerin şematik gösterimi (Khew ve Chia, 2011)	17
Resim 2.8. Kloroplast genoma ait <i>trnL-trnF</i> bölgesi (Taberlet ve ark., 1991)	18
Resim 2.9. <i>trnH-psbA</i> intergenik aralayıcının yapısı ve primer pozisyonları (Phoolcharoen ve Sukrong, 2013).	19
Resim 3.1. Seçilen DNA moleküllerinin evrimsel oranlarına bağlı farklılaşma gücü gösterilmektedir (Besse, 2020).	21
Resim 4.1. <i>ITS1-ITS2</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	37
Resim 4.2. <i>GA3ox1</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	44
Resim 4.3. <i>MatK</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	49
Resim 4.4. <i>rbcL</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	52
Resim 4.5. <i>trnL-trnF</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	56
Resim 4.6. <i>psbA-trnH</i> gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram	59

SİMGELER ve KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simge	Açıklama
%	Yüzde
Kısaltma	Açıklama
NCBI	National Centre of Biotechnology Information
MEGAX	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
COI	Sitokrom Oksidaz I
DNA	Deoxyribonucleic Acid
BOLD	The Barcode of Life Data System
CBOL	Consortium for the Barcode of Life
NGS	Next Generation Sequencing
HTS	High-throughput Sequencing
GBS	Genotyping by Sequencing
SNPs	Genotype Genome Wide High-throughput Single Nucleotide Polymorphisms
<i>matK</i>	Maturaz K
<i>rbcL</i>	Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase
<i>ITS1</i>	Internal Transcribed Spacer1
<i>ITS2</i>	Internal Transcribed Spacer 2
<i>psbA</i>	Photosystem II protein D1 gene
<i>trnH</i>	tRNA-His gene
<i>trnL</i>	tRNA-Leu gene
<i>trnF</i>	tRNA-Phe gene
<i>GA3ox1</i>	Gibberellin 3-beta-dioxygenase 1
MP	Maximum Parsimony

1.GİRİŞ

Trigonella cinsi Fabaceae ailesinin bir üyesidir. Dünyada ikinci en büyük yayılış gösteren Fabaceae ailesi yaklaşık 19.327 tür ile temsil edilmektedir (Lewis ve ark., 2005). Dünya genelinde *Trigonella* cinsi genellikle kuru bölgelerde yetişmekte olup, yaklaşık 135 tür ile temsil edilmektedir (Çeter ve ark., 2012; Pinar ve ark., 2014). Türkiye’de ise endemizm oranı oldukça yüksek olan *Trigonella* cinsinin üyeleri, Türkiye’nin farklı bölgelerinde 11 endemik tür göstererek, endemizm oranı %32,4 olan bir cinstir. Türkiye’de bulunan bütün *Trigonnella* cinsleri tek yıllıktır ve Türkiye’de farklı fitocoğrafik bölgelerde yayılış gösteren yalnızca 10 seksiyona ait *Trigonella* türleri yetişmektedir (Akan ve ark., 2020).

Dünya’da *Trigonella* L. cinsi Kuzey Afrika ve Güney Afrika çevresinde, Batı Asya’da, Doğu Akdeniz’de ve Güney Avrupa yayılış gösterirken, *Trigonella* L. cinsin üyelerinin sadece bir tanesi Güney Avustralya’da (*Trigonella suavisissima*) yetişmektedir (Ranjbar ve ark., 2012; Pinar ve ark., 2014). Vavilov’un 1926 yılında cinsin kökeni üzerine yaptığı çalışmaya göre, *Trigonella* cinsinin kökenin İsrail’den Suriye’ye, İran, Türkiye, Irak, İspanya ve Fas’ın Güneyine kadar ulaştığını belirtmiştir (Vavilov, 1926; Dangi ve ark., 2016; Uslu and Babaç, 2019). *Trigonella* cinsine ait türler Türkiye’de ise Trakya, Marmara, İç Anadolu, Güney Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yayılış göstermektedir (Beyzi ve ark., 2010). İran’ın farklı bölgelerinde ise yayılış gösteren 12 seksiyon, 48 takson *Trigonella* türü bulunmaktadır. İran’da yaklaşık endemik 15 takson *Trigonella* türü bulunmakta olup, Dünyada yayılışı en çok olan ülkelerden bir diğeri (Ranjbar ve ark. 2012; Ranjbar ve Hajmoradi, 2016). Dünya üzerindeki yayılışı incelendiğinde Rusya’da yaklaşık 35 tür, Avrupa florasında yaklaşık 23 tür, Filistin’de yaklaşık 19 tür, Mısır’da yaklaşık 12 tür 6 alttür, Kıbrıs’ta yaklaşık 8 tür ve İtalya’da yaklaşık 6 tür bulunmaktadır (Akan ve ark., 2006).

Trigonella cinsinin genel özellikleri incelendiğinde cinse ait var olan üyelerin genellikle kumarin benzeri bir koku verdikleri, bir ana sapın ucunda üç yaprağı olan, çok yıllık veya tek yıllık bitkiler olduğu bilinmektedir. Ayrıca *Trigonella* cinsi üyeleri, gıda ve ilaç için önemli bir bitki grubudur (Dangi ve ark., 2004). Özellikle *Trigonella*

türlerinden *T. foenum graecum* L. (Çemen otu) antik çağlarda, Yunanistan ve Mısır'da gıda ve tıpta farklı amaçlar için kullanıldığı bilinmektedir (Beyzi ve ark., 2010). Geleneksel anlamda *Trigonella* cinsi Hint Mutfağında yemeklere lezzet vermek için kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda *Trigonella* cinsine ait türlerin içeriğindeki birçok nadir tıbbi kimyasallar, cinsin tıpta kullanım alanını genişletmiştir (Dangi ve ark., 2004). Tıbbi kimyasal içeriği bakımından *T. foenum graecum* L. (Çemen otu), steroidal sapogeninler; izolösünler ve galaktomannanlar bulundurmaktadır. Bu bileşenler sağlık iyileştirme çalışmalarından dolayı türe tıbbi anlamda önem kazandırmaktadır. Buna ek olarak *T. foenum graecum* türü protein içeriği ve uygun amino asit bileşimi sayesinde soya fasulyesinin besleyiciliği ile eşit değere sahip olduğu kabul edilmektedir (Dangi ve ark., 2016). *T. foenum graecum* türü toprak özelliklerinin iyileştirilmesinde, yeşil gübre üretiminde ve hayvan besin kaynağı olarak da kullanılmaktadır (Beyzi ve ark., 2010).

Trigonella cinsi Türkiye'de yayılış gösteren birçok büyük cinslerdeki gibi, taksonomik anlamda sorunlu olan bir bitki grubudur (Akan ve ark., 2006). Cinsten var olan taksonomik problemlerin giderilmesi amacıyla morfolojik, sitolojik ve polen morfolojisi alanlarında birçok çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Sing ve Roy, 1970; Townsend ve Guest, 1974; Ranjbar ve ark., 2009; 2012). Tür içi ilişkilerin morfolojik veriler ile yapılmasından dolayı taksonomisinde hala büyük problemler bulunan (Dangi ve ark., 2016) *Trigonella* cinsine ait türlerin yakın akraba ilişkileri, morfolojik karakterler dikkate alınarak gerçekleştirilmesi çok benzer olan türlerin ayrımlarını zorlaştırdığı için taksonomik problemleri beraberinde getirmektedir. Bu nedenle belki de *Trigonella* cinsine ait bireylerin, tür içi ayrımlarında çok farklı türler aynı tür olarak sınıflandırılmış olabilir (Davis, 1970; Akan ve ark., 2006).

Bitki gruplarında taksonomik çalışmaları yapılırken, türleri temsil eden, birbirine yakın ve benzer morfolojik özelliklerden yararlanılmaktadır. Bu sebeple de benzer türlerin ayrımları güvenilir olmaktan çıkmaktadır. Ortaya çıkan sorunları gidermek için taksonomide moleküler çalışmalar oldukça önem arz etmektedir. *Trigonella* cinsinin seksiyon bazında sınıflandırmalarında da morfolojik karakterlerin kullanılması taksonomik problemleri beraberinde getirmiştir. Örneğin Small (1987a; b) tarafından gerçekleştirilen morfolojik çalışmalar sonucunda *T. arabica* türü için *Falcatulae* seksiyonuna ait ayırım yaparak sınıflandırırken, Dangi ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan DNA Barkodlama çalışmaları sonucunda türün *Pectinatae* seksiyonuna ait olarak

sınıflandırmaktadır. *Trigonella* cinsinde bulunan bu gibi taksonomik problemlerin giderilmesi için moleküler çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmanın amacı *Trigonella* cinsinde var olan taksonomik problemlerin giderilmesi adına, çekirdek DNA'sı ve kloroplast DNA'sına ait, DNA barkodlama bölgelerinin Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGAX) programı kullanılarak giderilmesi, bununla birlikte *Trigonella* cinsine ait türler arası akrabalık ilişkilerini, tür içi seksiyonel ayrımların ortaya koyulması ve morfolojik özelliklere göre yapılan taksonomik sınıflandırma arasındaki benzerlik ve farklılıkları ortaya çıkarılarak moleküler tanımlamaların yapılması amaçlanmıştır.



2. FABACEAE AİLESİ

Yaklaşık 727 cins ve 19.327 tür ile temsil edilen Baklagiller (Fabaceae) ailesi, dünyada bulunan çiçekli bitkilerin en büyük 2. ailesidir (Davis, 1970; Lewis ve ark., 2005). Fabaceae ailesi Leguminosae ve baklagiller olarak da adlandırılmaktadır (Dangi ve ark., 2004). Baklagil anlamına gelen Leguminosae ismi latince kökenli bir isimdir ve kökündeki 'lege' toprak anlamı taşımaktadır. Leguminosae isminin eski zamanlarda baklagillerin el ile toplanmasından dolayı verildiği düşünülmektedir (APA 2014).

Fabaceae ailesi üç alt familyadan meydana gelmektedir. Alt familyalarından Papilionoidae, yaklaşık 600 cinse ve 10.000 taksona sahipken, Caesalpinioideae alt familyası ise yaklaşık 180 cins ve 3.000'e yakın taksonu bulunmaktadır. Üçüncü alt familyası ise Mimosoideae'dır. Bu alt familya yaklaşık 56 cinse ve yaklaşık 3.000 taksona sahiptir (Heywood, 1979; Çalışkan, 2018). Bu üç alt familya arasında Papilionoidae alt familyası vejatatif, generatif ve meyve yapılarının farklılıklarından dolayı diğerlerinden ayrılmaktadır (Tucker, 2002). Genel anlamda Leguminosae familyasına ait cinsler çiçek ve meyve yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Yapılan çalışmalarla Leguminosae familyası 6 gruba ayrılmıştır (Huber-Morath, 1970).

Leguminosae familyasına ait üyeler genellikle odunsu ya da otsu yapıya sahiptir. Yaprak yapıları incelendiğinde alternat, stipilalı, bipennat, dijitat, trifoliolat ve basit yapıya sahiptirler. Çiçek yapıları ise genellikle hermafrodit, aktinomorf ya da zigomorf simetrili oldukları veya hipogin ya da perigin yapıya sahip oldukları bilinmektedir. Stamenleri dört veya daha fazla, yaklaşık 10 tane oldukları ve hepsinin bir tüpte birleştiği, üstte bulunan stamenin serbest olduğu ya da hepsinin serbest durumda olduğu bilinmektedir. Bir tane karpel bulunmakta olup üst durumludur ve kenarsal plasentalanmalıdır. Meyveleri genellikle bir veya daha fazla tohumlu olup, meyveler karın ve sırt boyunca açılmış ya da açılmamış bir yapıya sahiptir (Huber-Morath, 1970).

Fabaceae ailesinin Dünya üzerinde yayılışının fazla olmasının sebebi, birçok farklı iklim koşuluna uyum sağlıyor olmasından kaynaklanmaktadır (Rundel, 1989;

Brockwell ve ark., 1995). Dünya genelinde Fabaceae ailesinin yaklaşık olarak 20.000 türü bulunmakta olup Türkiye’de bu rakam yaklaşık 83 cins ve 1.145 türe ulaşmaktadır. Bu sebeple Fabaceae familyası Türkiye’de bulunan aileler arasında en büyük 2. ailedir (Brockwell ve ark., 1995; Güner ve ark., 2012).

Leguminosae familyasına ait üyeleri hem insanlar tarafından hem de hayvanlar tarafından besin olarak tüketilmektedir. Bunlara ek olarak yağ, lif, yakıt ve ilaç üretiminde kullanılmaktadır. (Lewis ve ark., 2005). Leguminosae familyasında yer alan bezelye, bakla ve mercimek gibi türleri protein içeriği bakımından oldukça zengindir. İçerik bakımından proteinlerce zengin olması nedeniyle; Medicago, Lupinus ve tıbbi açıdan değerli olan *Trigonella* türleri sıklıkla hayvan yemi ve gübre üretiminde kullanılmaktadır (Seçmen, 1998; Rakhee ve ark., 2004).

2.1. TRIGONELLA L. CİNSİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Türkiye'deki cinsin tüm üyeleri çok yıllık ve nadiren 50 cm'den daha uzun, tüylü veya tüysüz, genelde vanilya benzeri tatlı bir koku ve acı bir tada sahiptir (Huber- Morath, 1970; Dangi ve ark., 2004). *Trigonella* türleri sıklıkla gıda olarak ve farmasotik alanda çoğunlukla tercih edilmesi dolayı büyük bir öneme sahiptir (Dangi ve ark., 2004; Ranjbar ve ark., 2009). Gıda olarak en çok tercih edilen cinsi olan *T. foenum-graecum* (çemen) genelde taze olarak tüketilir ve legümenlerindeki sakız, zamk tıbbi amaçlı olarak kullanılır. Bu gibi nedenlerden dolayı da *T. foenum-graecum* türü, cinse ait diğer türlerden daha çok ekonomik öneme sahiptir (Dangi ve ark., 2016). Ayrıca yüksek besin değerleri sayesinde birçok türü hayvan yemi ve gübre olarak da kullanılmaktadır (Seçmen, 1998; Rakhee ve ark., 2004). Ayrıca farklı kullanım alanlarına örnek olarak İsviçre’de peynirlere tat vermek için, Almanya’da endüstriyel olarak üretilen Akçağaç şurubu yapımında, Afrika’da tohumları kahve olarak, İsrail’de bitkilere zarar veren böcekler için uyarıcı ve antibiyotik olarak, Fransa’da ise tohumlarındaki yağdan parfümeri için koku unsuru olarak kullanım alanları bulunmaktadır (Gupta, 2001; Rakhee ve ark., 2004).

2.1.1. *Trigonella* L. Taksonomisi

Türkiye *Trigonella* cinsi açısından en zengin ülkelerden birisi olmasının yanı sıra cinsin bazı türlerinde hatta seksiyonlarında ciddi taksonomik sorunlar vardır (Davis, 1970; Davis ve ark., 1988; Akan ve ark., 2006). *Trigonella* cinsinde var olan taksonomik

problemlerinin giderilmesi amacıyla türe ait bireylerin morfolojisi, sitolojisi ve polen morfolojisi ile ilgili çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Singh ve Roy, 1970; Townsend ve Guest, 1974). Ancak moleküler çalışmaların azlığından dolayı hala cins içindeki tür içi ve türler arası akrabalık ilişkilerin de karışıklıklar mevcuttur (Dangi ve ark., 2016). Bununla birlikte morfolojik olarak birbirine benzer olan *Trigonella* türleri arasında güvenilir bir ayırım yapmak bu cinsin taksonomisini zorlamaktadır. Bu nedenle şuan var olan tür ayırımı içerisinde belki de çok farklı olan türler aynı tür olarak sınıflandırılmış olabilir (Akan ve ark., 2006). Bitki grupları içerisinde tür ayırımına yönelik taksonomik çalışmalar yapılırken, var olan bitki grubuna ait türlerin teşhisinde birbirine yakın morfolojik özellikler tür ayırımı için anahtar olarak tercih edilmektedir. Tercih edilen bu anahtarların benzer morfolojiye sahip bitki gruplarına ait türler arasında kullanılması, güvenilir bir ayırım gerçekleştirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle tür kategorisindeki ayırmalarda moleküler düzeyde çalışmalar yapılması, çalışmalara güvenilirlik ve kesinlik sağlaması açısından ve taksonomik problemleri cinslerin çözümüne katkı sağlanması adına büyük bir öneme sahiptir.

2.2. DNA BARKODLAMA

DNA borkodlama yöntemi, canlıların tür bazında sınıflandırılması ve filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılmasının yanında kriptik türlerin ortaya çıkarılması (Hürkan, 2017), adli tıp alanında biyolojik numunelerin suçlular ile eşleştirilmesi (Mildenhall, 2006; Grant ve ark., 2021), gıda güvenliğinin denetimi ve gıda ürünlerinin saflığının ortaya çıkarılması (Hürkan, 2017, Yılmaz, 2021) gibi pek çok farklı alanda kullanılmaktadır.

Gelişen teknoloji ile birlikte DNA dizileme tekniklerinde yaşanan gelişmelerle birlikte DNA dizi bilgisi, evrimsel genetik bilgisinin açığa çıkarılması için önemli bir hale gelmiştir (Hajibabaei ve ark., 2007). DNA barkodlama terimi, standartlaştırılmış bir DNA fragmanının kullanılması ile türlerin tanımlanması anlamına gelmekte olup kullanılan DNA barkodları ise çalışılacak olan bir türün genomunun küçük bir parçası olarak adlandırılmaktadır (Hebert ve ark., 2003a; Yılmaz, 2021). 2003 yılında türlerin tanımlanması adına kullanılması önerilen DNA barkodlama yöntemi ile, genomda belirlenmiş bölgelerde bulunan dizilerin ortaya çıkarılarak türlerin tanımlanmasını ve filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasını amaçlanmıştır (Hebert ve ark., 2003b; Lahaye

ve ark., 2008; Hürkan, 2017). DNA barkodlama çalışmaları Lepidoptera takımında, mitokondri kökenli sitokrom c oksidaz alt ünite 1 (*coxI*) gen bölgesi kullanılarak gerçekleştirilmiş, daha sonra bazı kuş türlerinde (Hebert ve ark., 2004) ve balık türlerinde (Ward ve ark., 2005) *coxI* geni barkod olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmaların sonucunda hayvan türlerinde mitokondriyal *coxI* geninin türlerin tanımlanmasında yüksek başarı verdiği iddia edilmiş ve daha sonraki çalışmalar için önerilmiştir. Fakat 600 bp'lik kısa gen parçası olan *coxI* geni, hayvan türleri için her ne kadar tür seviyesinde ayırıcı standart bir barkod bölgesi olarak kabul edilse de, bitkilerde ve mantarlarda *coxI* gen bölgesindeki düşük mutasyon oranının bulunması sebebiyle yeni DNA barkod bölgelerinin araştırılmasına ihtiyaç doğmuştur (Hollingsworth ve ark., 2009; Fazekas ve ark., 2012; Hürkan, 2017).

DNA barkodlama yöntemi, gıda sektöründe özellikle ürünleri korumak ve belgelendirmek isteyen üretici vatandaşlarımızın ve aldıkları ürünlerin kalitesi ve menşei ile ilgili bilgi edinmek isteyen tüketiciler için oldukça faydalı bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Espineira ve Santaclara, 2016; Yılmaz, 2021). Bunun yanında gıda mühendisliği dalı içinde, DNA barkodlama çalışmaları ile elde edilen meyve ve sebze barkod verileri ile metabarkodlama çalışmalarının yürütülmesi gıda sektörü için büyük önem taşımaktadır (Yılmaz, 2021).

DNA barkodlama yönteminin keşfinden bu yana, türlerin sınırlarını ve dünyadaki biyolojik toplulukların kompozisyonunu anlamamıza büyük ölçüde katkı sağlamıştır (DeSalle ve ark., 2019; Grant ve ark., 2021). Bu açıdan türlerin sınırları ve tanımlamaları için yapılan biyolojik izleme (Taberlet ve ark., 2018), gıda endüstrisinde gözetim (Galimberti, 2019; Yılmaz, 2021) ve bitkisel tıp sektöründe DNA barkodlama çalışmaları (De Boer, 2015), ulusal ve uluslararası biyoçeşitlilik araştırmaların önünü açmıştır (Taberlet ve ark., 2018; Grant ve ark., 2021).

Morfolojik tanımlamaları sınırlandıran (Yavru, karışık ya da bozulmuş bitki meteryali gibi) durumlarda tür tanımlanmasına olanak sağlayan DNA barkodlama yöntemi, DNA metabarkodlama tekniği ile birlikte bir çok farklı DNA kaynağından tür kompozisyonlarını hızlı bir şekilde tanımlanmasına da olanak sağlamaktadır (Hollingsworth ve ark., 2016; Deiner ve ark., 2017; Jones ve ark., 2020). Çevresel izleme çalışmalarında DNA barkodlama ile elde edilen veriler doğrultusunda gerçekleştirilen

DNA metabarkodlama çalışmaları ile nadir türlerin varlığının tespiti (Harper ve ark., 2018), böceklerini uğradıkları çiçeklerden alınan DNA'ları ile bu türlerin tozlayıcı topluluk olup olmadığının tespiti ve tarihi bitki topluluklarının yeniden yapılandırılması ile biyoçeşitliliğin izlenmesi (Brennan ve ark., 2019) gibi pek çok alana katkı sağlanmaktadır. Ticari uygulamalarda ise bitkisel ilaçların kimliğinin doğrulanması, balın coğrafi kökeninin tespiti ve çay örneklerinin hangi bitki türlerinin birleşiminde üretildiğinin araştırılmasında DNA barkodlama tekniği kullanılmaktadır (Jones ve ark., 2020).

Günümüzde moleküler tabanlı, yenilikçi bir yaklaşım olarak tanımlanan DNA barkodlama, var olan taksonlar arasında ayırım yapmak için nükleik asitlerin değişkenliğinin saptanması, verilerin analiz edilerek standartlaştırılmasının sağlanması ve sonuçların dijital ortamlara aktararak depolanabilmesi gibi pek çok avantajlara olanak tanısa da (Yılmaz, 2021), her canlı grubu için standart bir DNA barkod bölgesinin mümkün olmaması, referans kütüphanelerinin yetersizliği ve kütüphanelerinin kalite kontrolünün yapılmaması gibi pek çok dezavantajı da bulunmaktadır (Grant ve ark., 2021). Özellikle hayvanlar gruplarında standartlaştırılmış bir DNA barkod bölgesi bulunurken, bitki grupları için bu durum söz konusu değildir. Bunun asıl nedeni kullanılan DNA barkod bölgelerinin çeşitli bitki gruplarında güçlü ve zayıf yönlerinin çokluğudur. Bu nedenle de bitki grupları için standartlaştırılmış DNA barkod bölgesi bulunmamaktadır (Newmaster ve ark., 2008; Fazekas ve ark., 2008; 2012). Çeşitli bitki gruplarında kullanılan çeşitli barkodların değişkenlik göstermesinin nedeni ise bitkilerin hibridizasyon, poliploidi, üreme sistemi değişimleri ile türleşme, eski popülasyonların büyüklüklerinin fazlalığı ve plastid barkod bölgelerinin düşük oranda intraspesifik gen akışı göstermeleri yer almaktadır (Hollingsworth ve ark., 2011; Fazekas ve ark., 2012).

Bitki türlerinde ihtiyaç duyulan standart DNA barkod bölgesi için çalışmalar düzenlenmiş, 2009 yılında Uluslararası Yaşam Barkodu konferansında, bitkilerde kullanılabilecek diğer lokusların araştırılarak, farklı bölgelerin denenmesi kararı alınmıştır (CBOL, 2009). Bu konferansın ardından kara bitkilerinde kullanılan, çekirdek genomunda yer alan *rbcL* ve *MatK* gen bölgelerine ek olarak plastid genomunda bulunan intergenik aralayıcı *trnH-psbA* ve çekirdek genomunda yer alan ribozomal intergenik aralayıcı *ITS* bölgeleri yaygınlaşarak kullanılmaya başlanmıştır (Alvarez ve Wendel, 2003; Fazekas ve ark., 2012). Son 10 yıldır tüm türlerde evrensel çapta başarılı sonuç

veren bir barkod bölgesi araştırılsa da, henüz aranan standartlara uygun barkod bölgesi keşfedilememiştir (Hürkan, 2017).

2.2.1. DNA Barkodlama Aşamaları

DNA barkodlama yöntemi, DNA/RNA tabanlı yöntemler arasında yer alan, PCR temelinde bir metod olup, spesifik ya da spesifik olmayan rastgele primerlerin kullanılarak, genomun hedef lokuslarının çoğaltılması ile elde edilen ürünün sekans dizilemesi ile gerçekleştirilir (Yılmaz, 2021). Kısa gen bölgelerinde var olan değişkenlerin analizinin, hızlı ve doğru tanımlanarak taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağladığı ve problemlerin çözümünde faydalı bir yöntem olduğu yapılan araştırmalar sonucunda kanıtlanmıştır (Holligsworth ve ark., 2011). DNA barkodlama yönteminde bir bitki grubunun kloroplast genomu ya da çekirdek genomu üzerinde hedeflenen bölgenin kısa zincirler halinde sekans bilgisinin sağlanarak, hizalandırılması sonucunda tür ve alt tür seviyesinde sınıflandırmalar gerçekleştirilebilmektedir (Kurban, 2019).

Çok aşamalı olarak gerçekleştirilen DNA barkodlama yönteminde; DNA ekstraksiyonu, izole edilen DNA'ların PCR yöntemi ile hedef bölgelerin amplifikasyonun sağlanması, PCR ile çoğaltılan ilgili bölgelerin dizilenmesi ve ilgili dizilerin dijital ortamlara aktarılarak, biyoinformatik araçlar ile var olan referans veriler ile karşılaştırılması adımlarıyla gerçekleştirilmektedir (Fazekas ve ark., 2012; Yılmaz, 2021).

Bitki çalışmalarında DNA barkodlamanın ilk adımı olan ekstraksiyon aşamasında genellikle aktif olarak büyüyen bitki dokuları numune olarak seçilmektedir. Bunun aksine yaşlanmış, hasar görmüş veya enfekte olmuş dokular tercih edilmemektedir. Günümüzde bitki barkodlama çalışmalarında yaprakların yanında sürgün uçları ya da çiçek tohumları da numune olarak kullanılmaktadır (Colpaert ve ark., 2005; Fazekas ve ark., 2012). DNA ekstraksiyonunun temel hedefi, nükleik asit kompleksini içeren kısmın, hücre ve çekirdek duvarlarının lizizinin ardından açığa çıkan polisakkarit bileşiklerin, fenolik birleşiklerin ve protein içerikli bileşiklerin sıvı hale getirilerek DNA'dan uzaklaştırılarak saf hale getirilmesidir (Zou ve ark., 2017). Piyasada DNA ekstraksiyonu için pek çok ticari kit bulunmakta olup, kitlerin içeriğinde filtreli kolonlar ve hücre lizatlarının parçalanması için ihtiyaç duyulan kimyasallar bulunmaktadır (Drabkova, 2014; Kalendar ve ark.,

2021). Günümüzde ticari kitlerin kullanımı yaygınlaşsa da, DNA izolasyonu için uygulanan temel teknik 1980 yılında Murray ve Thompson tarafından Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB) protokolü olarak geliştirilmiştir (Murray ve Thompson, 1980; Kalendar ve ark., 2021).

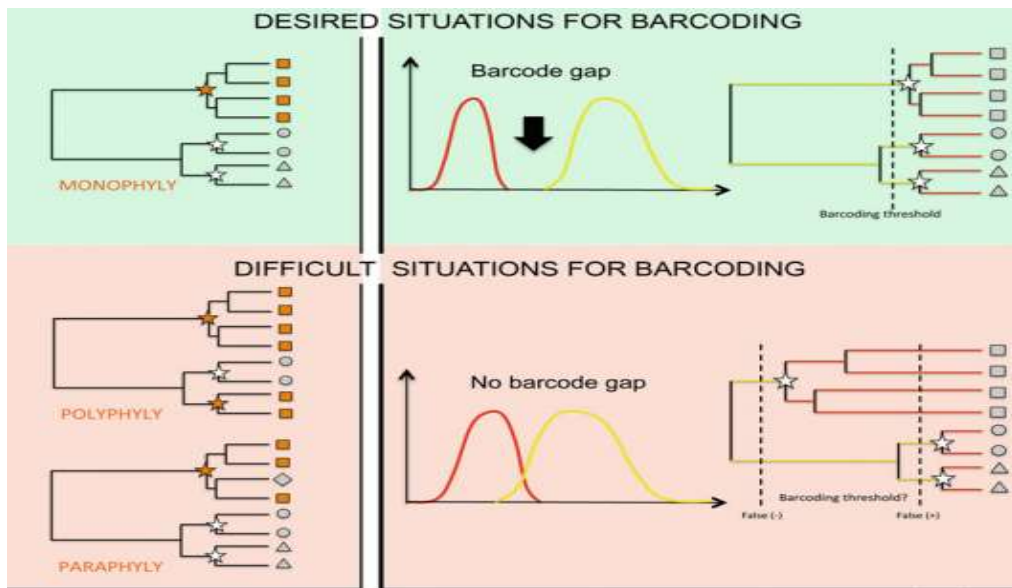
DNA barkodlamanın ikinci aşaması olan PCR yöntemi, temelde *in vitro* koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılmasıdır (Mullis, 1990). Üç aşamadan oluşan PCR yönteminde, saflaştırılan DNA üzerinde istenilen bölgeler, primerler ile amplifiye edilerek çoğaltılmaktadır. PCR yönteminin ilk basamağı DNA zincirinin açılması işlemi ile gerçekleştirilir (Denatürasyon), ikinci aşamasında seçilen primerler açılan DNA üzerinde uygun zincirlere bağlanmaktadır (Annealing), son aşamasında ise bağlanan primerlerin uzaması (Extesion) sağlanarak, DNA barkodlama için seçilen bölgelerin çoğaltılması işlemi gerçekleştirilmektedir (Yılmaz ve Devran, 2016; Yılmaz, 2021). DNA barkodlama çalışması için çoğaltılan bölgelere ait sekans bilgisi, dizileme yöntemleri ile ortaya çıkarılmaktadır. Günümüzde Next Generation Sequencing (NGS), High-throughput Sequencing (HTS), Genotyping-by-sequencing (GBS) ve Genotyp Genome-wide High-throughput Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) gibi pek çok sekanslama yöntemi kullanılmaya başlansa da, ilk DNA dizi bilgisi, Zincir Sonlandırma Metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Sanger ve ark., 1975). Sanger dizileme olarak adlandırılan yöntemde nükleotitlerin uzaması için gerekli olan bir grup yoksun bırakılarak işaretlenmekte, böylece dizi sonlarında yer alan floresan etiketler sayesinde, otomatik dizileme cihazları ile bölgenin sekans bilgisi tespit edilmektedir (Sanger ve ark., 1977).

DNA barkodlama çalışmalarının son aşaması elde edilen sekans bilgilerinin, biyoinformatik araçlar kullanılarak analizlerinin gerçekleştirilmesidir. Biyoinformatik analiz için farklı sekans hizalandırma yöntemi bulunmakta olup (Sarıçam ve Müştak, 2015), elde edilen sekanslar GenBank (GenBank Overview), Barcode of Life Database (BOLD) gibi sıklıkla kullanılan veri tabanları ile tür tanımlanması, yeni tür keşfi ve ya taksonomik problemleri türlerin var olan referans verileriyle karşılaştırılarak taksonomisine katkı sağlanabilmektedir (Yılmaz, 2021).

2.2.2. DNA Barkodlama Yöntemindeki Zorluklar

Bilimsel çalışmalarda kullanılan her yöntemin belirli sınırlamaları ve zorlukları bulunmaktadır. Tür tanımlanmasında kullanımı yaygınlaşan DNA barkodlama

yönteminde artan çalışmalarla birlikte, karşılaşılan sınırlamaların ne olduğu ortaya çıkarılmıştır. Özellikle DNA barkodlama yönteminde, çalışılan türlerde açık barkod bölgesinin bulunmaması, standart barkod bölgelerinin çalışmamasına neden olarak DNA barkodlama çalışmalarını zorlaştırmaktadır (Holligsworth ve ark., 2016; Besse ve ark., 2020). Bununla birlikte DNA barkodlama yöntemiyle gerçekleştirilen çalışmalarda, yalnızca monofiletik türlerin tanımlanmasında başarılı sonuçlar verirken, parafiletik ve polifiletik grupların tanımlanmasında başarısız olmaktadır. Bu nedenle de DNA barkod çalışmalarında tek bir barkod bölgesinin kullanılmasından ziyade çoklu bölge kullanımı önerilmektedir (Li ve ark., 2015; Grant ve ark., 2021).



Resim 2.1. DNA barkodlaması için monofiletik türlerin ve barkodlama boşluğunun gerekliliği (Besse ve ark., 2020)

DNA barkodlama yönteminde tür ayrımları bir barkodlama boşluğu varlığında gerçekleştirilmektedir. Resim 2.1.' de "Barcode gap" olarak adlandırılan bölgelerin varlığı tür içi ve türler arasında ortak olmayan sekansların birbirleriyle örtüşmemesi sonucu ayırım yapabilmeyi sağlamaktadır. Barkodlama boşluklarının çalışılan türlerde bulunması, türlerin ayrımlarının örtüşmeyen sekanslar sayesinde oluşan eşik ile gerçekleştirilebilmektedir. Aksine barkodlama boşluğunun bulunmaması tür ayırımı için gerekli olan eşik belirlenememesine neden olarak tür tanımlanmasını ve ayırımı imkânsız bir hale getirmektedir. Son dönemlerde bitkilerde hibridizasyon ve parafili gen ağaçlarının oranlarının artmasından dolayı barkodlama boşlukları, hayvanlara oranla

daha az bulunmaktadır. Bu sebeple standart bir DNA barkod bölgesinin belirlenmesi, bitkiler için oldukça zordur (Fazekas ve ark., 2009; Besse ve ark., 2020).

Bitkilerde DNA barkodlama yöntemindeki zorluklar, çalışılan bitki türlerinin yaşam ömürlerinin uzunluğu, poliploidi, hibridizasyon, kendi kendine döllenme davranışı sonucu yakın ilişkili türlerin varlığı, zayıf tohum yayılımı göstermeleri ve dar olan tür sınırları daha düşük tür ayırım sonuçları verilmesine neden olmaktadır (Holligsworth ve ark., 2011).

DNA barkodlama metodolojisinde, çalışılan bitki türleriyle ilgili zorluklar olduğu gibi çalışmasının gerçekleştirilebilirliği ile ilgili sınırlamalar da bulunmaktadır. DNA barkodlama çalışmalarında karşılaşılan zorluklardan bir diğeri ise referans kütüphanelerinin kalite kontrolünün yapılmamasından kaynaklanmaktadır. Buna ilaveten var olan veri tabanlarının açık erişim olmaması, kaynak gereksiniminin zorunlu olduğu çalışma gruplarında standardizasyonunun zorluğu da DNA barkodlama çalışmalarını sınırlamaktadır (Grant ve ark., 2021). Bu sınırlamaların her ne kadar önüne geçilmeye çalışılsa da günümüzde hala bu sınırlamalar bulunmaktadır.

2.3. ÇALIŞILAN DNA BARKODLAMA BÖLGELERİ ve ÖNEMİ

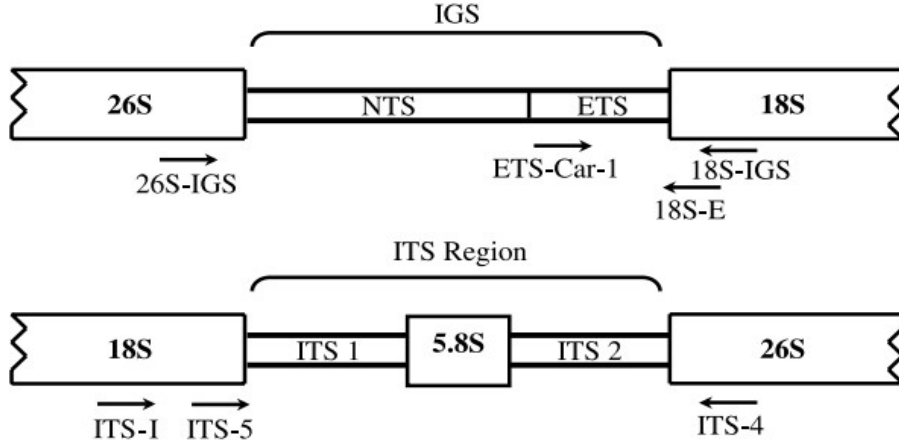
Bitkilerde en yaygın kullanılan barkodlama bölgeleri Nükleer DNA ve Kloroplast DNA'ya ait bölgelerdir.

2.3.1.Nükleer DNA Bölgeleri

Bitki hücre çekirdeği genomu yani nükleer genom ana kalıtım kaynağı olarak, gen duplikasyonları, mutasyonlar, poliploidi ve genetik sürklenmeler gibi pek çok sebepten büyük bir çeşitliliğe sahiptir. Bitki gruplarında, özellikle çiçekli bitkilerin kromozom sayıları yüksektir ancak çiçekli bitkiler grubunda yer almayan diğer bitki gruplarının da genomları kromozom sayısı yüksek olan gruplar kadar büyüktür (Zhang ve Sang, 1999; Bennett ve Leitch, 2003; Sancar, 2017).

Çekirdek genomu, rRNA'ları kodlayan genleri ve ardışık sıralı tekrar dizilerini içermektedir. Bu genlerden transkripsiyona uğrayan ve korunan 18S, 5.8, 26S rRNA genleri ve bu genler arasında boşluk olarak adlandırılan, transkripsiyona uğrayan ETS (external transcribed spacer) bölgeleri ve transkribe olmayan NTS (nontranscribed spacer) bölgeler yer almaktadır (Sharma ve ark., 2002). Genellikle çekirdek genomunda

bulunan ETS ve NTS bölgeleri genler arası kodlama yapmayan, intergenik boşluklar (IGS) olarak adlandırılmaktadır (Baldwin ve ark., 1995). İç transkripsiyonu aralayıcı bölge olarak adlandırılan ITS bölgeleri ise 18S, 5.8S, 26S rRNA genleri arasında yer almaktadır (Resim 2.2.).



Resim 2.2. IGS ve ITS bölgelerinin konumu ve çoğaltılması için sıklıkla kullanılan primerler (Kelch ve Baldwin, 2003).

Bitki gruplarında nükleer genomda ait bölgeler filogenetik ilişkilerin tespit edilmesinde ve popülasyon düzeyinde analizlerin yapılmasında sıklıkla tercih edilen bir bölgedir. Özellikle çekirdek genomunda korunan kodlayıcı bölgeler familya ve üst sınıflandırmalarda var olan problemlerin çözümüne katkı sağlarken, hızlı evrimleşen ITS ve IGS bölgeleri, türlerin tanımlanması ve yakın akraba türlerin ilişkilerin ortaya çıkarılmasında tercih edilmektedir (Rogers ve Bendich, 1987).

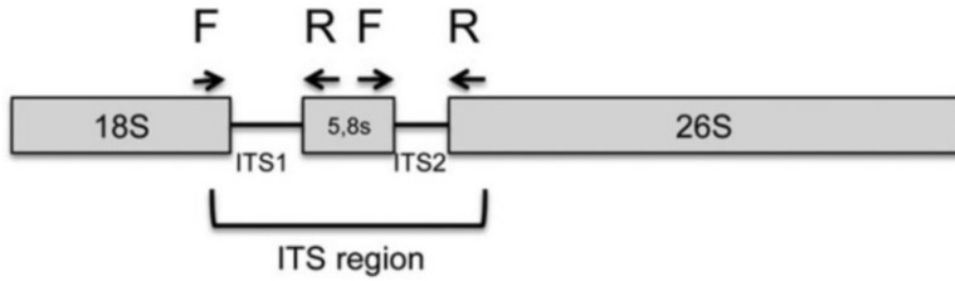
2.3.1.1. ITS Bölgeleri

Çekirdek genomunda bulunan ITS bölgeleri (ITS1 ve ITS2), 18S, 5.8S ve 26S ribozomal RNA alt birimlerini kodlayan genlerin arasında bulunan ve translasyona uğramayan iç ara bölgelerdir (Nilsson ve ark., 2008; Besse, 2021). Nükleer genomda iki adet bulunan ITS bölgelerinden ITS1, 18S ile 5.8S genleri arasında konumlanırken ITS2 bölgesi, 5.8S ile 26S genleri arasında yer almaktadır (Resim 2.3.).

Son 10 yıldır DNA barkod bölgesi olarak, farklı bitki grupları üzerinde gerçekleştirilen evrimsel ve sistematik araştırmalar da ITS bölgeleri oldukça çok popülerdir (Álvarez ve Wendel, 2003; Sramkó, 2008). Yapılan araştırmalarda ITS

bölgelerinin kloroplast dizilerine oranla daha fazla değişkenlik göstererek, çalışılan türler hakkında daha bilgilendirici olduğu ortaya çıkarılmıştır. Özellikle angiosperm bitki gruplarında cins ve tür ayırım düzeyinde gerçekleştirilen sınıflandırma çalışmalarında, 1990 yılından bu yana ITS bölgeleri sıklıkla tercih edilmektedir (Baldwin ve ark., 1995; Goel ve ark., 2002).

Filogenetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan ITS dizileri yaklaşık 500-900 baz çifti uzunluğa sahip, kopya sayısı çok olan ve PCR yöntemi ile kolay çoğaltılabilen bölgelerdir. Bu nedenle evrensel primerler ile kolayca çoğaltılarak, filogenetik ve sistematik çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir (Amit Roy, 2014).

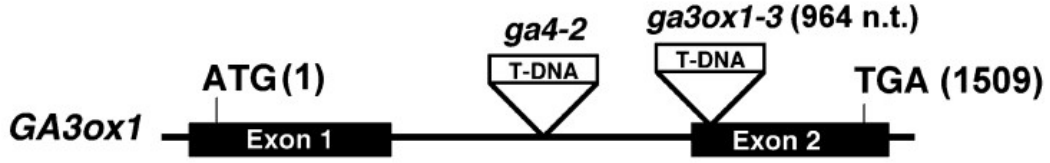


Resim 2.3. Nükleer ribozomal RNA genleri arası ITS bölgelerinin yapısı ve primerleri (Besse, 2021).

2.3.1.2. *GA3ox1* Bölgesi

Bitkilerde tohum çimlenmesinden, kök uzamasından, yaprak genişlemesinden, çiçek ve tohum gelişiminden sorumlu olan biyoaktif gibberellinler, önemli bitki büyüme düzenleyicileridir (Resim 2.4.). Farklı bitki gruplarında, ilgili dokuya ait aktif ve inaktif biyoaktif gibberellinler (GA) bulunmaktadır (Piotrowska ve Bajguz 2011). GA’larda bulunan oksidaz grubu genleri, giberellin biyosentezinin son safhasında görev aldığı ve GA homeostazını düzenlenmesinde rol aldığı ortaya çıkarılmıştır (Claeys ve ark., 2014).

GA3ox genleri ile yapılan araştırmalarda çiçeğin gelişimi esnasında yalnızca erkek organ filamentlerinde, anterlerinde ve çiçek saplarında ifade edildiği ortaya çıkarılmıştır. Buna ek olarak *GA3ox*’lerin işlevlerinin baskılandığı mutant bitkilerin, erkek organlarında ve taç yapraklarında anormallikler olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda *GA3ox1* geninin bitki gelişiminde, tohum gelişim aşamasında ifade edilerek GA üretimi için oldukça önemli olduğu sonucu ortaya çıkarılmıştır.

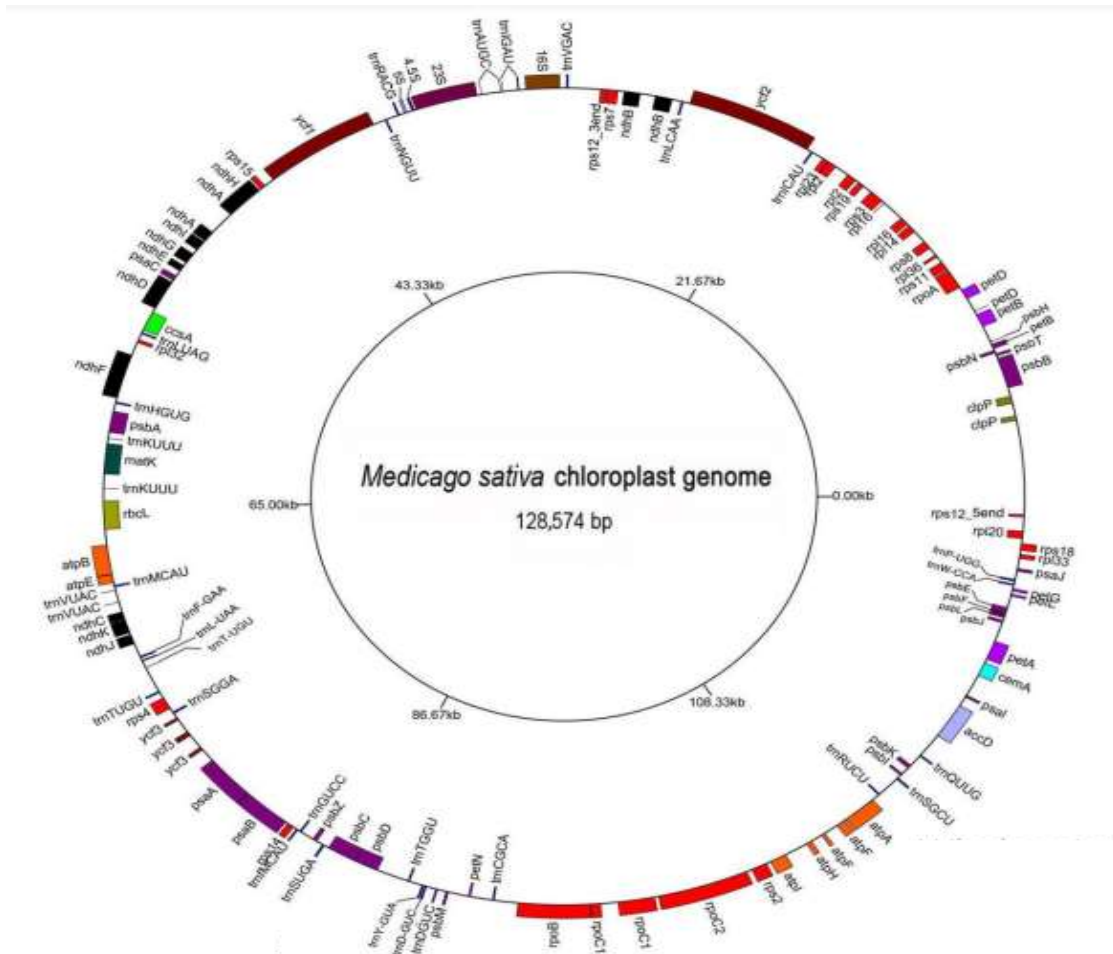


Resim 2.4. *Arabidopsis thaliana* *GA3ox1* geni ve T-DNA ekleme mutant çizgileri (Mitchum ve ark., 2006).

2.3.2. Kloroplast DNA Bölgeleri

Kloroplast genomu (cpDNA), halkasal yapıda, büyük ve karmaşık bir yapıya sahiptir. Mitokondri genomuna benzerlik gösteren kloroplast genomu, daha kompleks bir genomdur ve yaklaşık 100-225 kb oluşan cpDNA'da yaklaşık 150 gen bulunmaktadır (Resim 2.5.). Nükleer genomdan farklı genetik sistemi bulunan cpDNA genomu, bitkide fotosentezden sorumlu olan iki ayrı genden birisine sahiptir ve kloroplast organelinin içerdiği 4.000 proteinden yalnızca 100 tanesini kodlarken geriye kalanını nükleer genom kodlamaktadır (Karataş, 2012; Doğan, 2013). Kodlanmayan bölge içeriği az olan cpDNA genomu, nükleer genoma oranla daha yavaş evrimleştiği için mutasyon oranları düşüktür (Taberlet ve ark., 1991). Buna ek olarak cpDNA genomunun izole edilmesi, klonlanması ve dizilenmesi nükleer genoma göre daha kolaydır (Clegg ve ark., 1994).

Son yıllarda cpDNA genomunda bulunan, kodlanmayan kısımlar (*trnH-psbA*, *trnL-F*, *trnS-G*) ve kodlanan kısımlar (*atpB-atpF rbcL*, *matK*, *ndhF*) ile gerçekleştirilen çalışmalarda ortaya çıkan verimli veriler ile moleküler biyolojiye, taksonlar arası filogenetik ilişkinin açığa çıkarılmasına ve bitki genetiği çalışmalarına katkı sağlanmış ve bu bölgeler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Xu ve ark., 2000; Doğan, 2013). Taksonomik ve evrimsel çalışmalarda popüler olan cpDNA'nın tercih edilme sebeplerinden birisi tek ebeveynden aktarılmasıdır. Bununla birlikte rekombinant olmaması, gen içeriği bakımından yüksek seviyede korunmuş olması ve boyutunun büyük olması da filogenetik analizlerde tercih edilme sebepleri arasındadır (Taberlet ve ark., 1991).

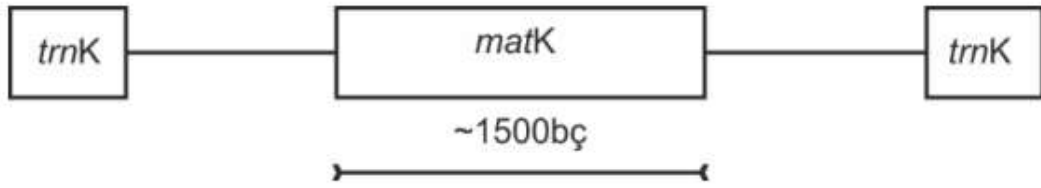


Resim 2.5. *Medicago sativa* komple kloroplast genom haritası (Tao ve ark., 2016).

2.3.2.1. *MatK* Bölgesi

Kloroplast genomunda yer alan Maturase K (*matK*) geni, trnK geni içerisinde bulunan, yaklaşık 1.500 bp uzunluğuna sahip, korunmuş bir bölge olmasına karşılık evrim oranı yüksek bir gen bölgesidir (Resim 2.6.). Özellikle kapalı tohumlu bitkilerde gösterdiği yüksek düzey ayırım yeteneğinden dolayı CBOL tarafından test edilmiş, kapalı tohumlu bitki gruplarında %90 oranında, açık tohumlu bitkilerde % 83 oranında başarı sağladığı ortaya çıkarılmıştır (CBOL, 2009).

MatK geni, kloroplast genomunda yer alan diğer barkodlama bölgelerine oranla çok daha hızlı evrimleşen bir barkod bölgesidir (Chase ve ark., 2007; Hürkan, 2017). Bununla birlikte nükleer genomda yer alan ITS bölgelerine oranla iki kat daha uzun olan *matK* gen bölgesinin, transisyon/transversiyon oranları oldukça düşüktür (Min ve Hickey, 2007).

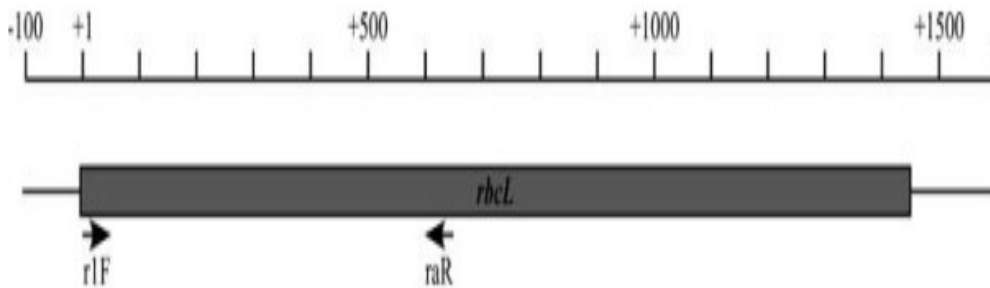


Resim 2.6. MaturaseK (*matK*) gen bölgesinin şematik gösterimi (Hürkan, 2017).

2.3.2.2. *rbcL* Bölgesi

RbcL gen bölgesi, 476 amino asitlik RuBisCo enziminin büyük alt ünitesinin kodlandığı, yaklaşık 1.428 bç'den oluşan ve intron içermeyen kloroplast kökenli bir gen bölgesidir (Resim 2.7.). Diğer kloroplast barkod bölgelerine oranla mutasyon frekansı düşüktür (Kress ve ark., 2005).

rbcL gen bölgesi kloroplast genomunda en iyi karakterize edilmiş gen bölgesi olarak tanımlanmasından ve bitkiler arasında korunmuş bir bölge olmasından dolayı National Centre of Biotechnology Information (NCBI) veri tabanının da 50.000'den fazla *rbcL* gen bölgesi çalışması bulunmaktadır. Ancak ayırım gücünün yetersiz olması, çalışılan bitki gruplarının tür seviyesinde ayırımını mümkün kılmamaktadır (Fazekas ve ark., 2008; CBOL, 2009). Bu özelliklere rağmen kara bitkileriyle yapılan çalışmalarda bölgenin çoğaltılmasının ve dizilenmesinin kolay olması, korunmuş bir bölge olmasına rağmen aile ve cins seviyesinde yeterli ayrımlar sağlamasından ve kloroplast ve nükleer lokuslarla kombine edildiğinde doğru ayrımlar yapmasından dolayı araştırmacılar tarafından bitkiler için barkod adayı olarak önerilmektedir (CBOL, 2009; Hollingsworth ve ark., 2011).

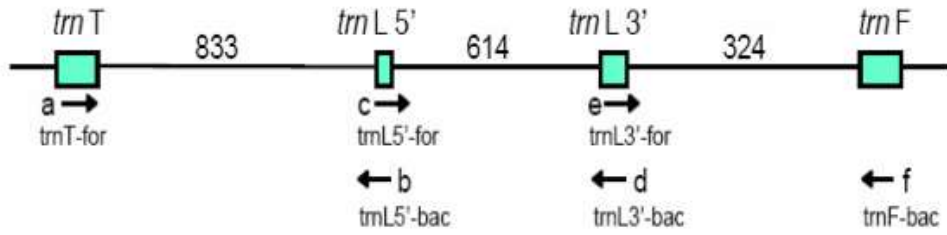


Resim 2.7. *rbcL* gen bölgesinin yapısı ve karşılık gelen primerlerin şematik gösterimi (Khew ve Chia, 2011).

2.3.2.3. *trnL-trnF* Bölgesi

TrnL-trnF bölgesi, kloroplast genom üzerinde bulunan genler arasında (UAA-3'ekson ile *trnF* geni-GAA) yer alan bir boşluktur (Resim 2.8.). Genler arası bir bölge olan *trnL-trnF* bölgesi, kodlama yapmayan, yaklaşık 120-350 bp uzunluğuna sahip bir bölgedir (Gören, 2011). Kodlama yapmamasına karşılık *trnL-trnF* bölgesi bitki genetiği, filogenetik çalışmalar ve biyoçoğrafya çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda yapılan bitki genetiği ve filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında kullanılan *trnL-trnF* bölgesindeki varyasyon oranlarının fazlalığı nedeniyle kodlama yapan bölgelere oranla daha bilgilendirici ve güvenilir sonuçlar verdiği ortaya çıkarılmıştır (Aydemir, 2015; Choulak ve ark, 2017).



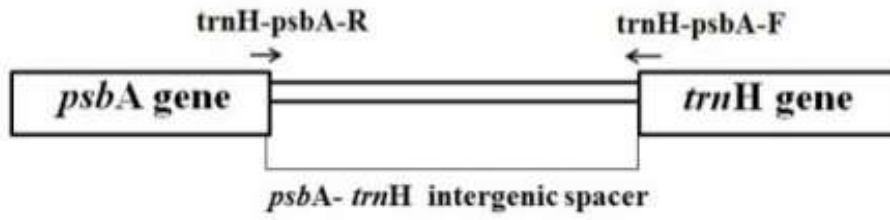
Resim 2.8. Kloroplast genoma ait *trnL-trnF* bölgesi (Taberlet ve ark., 1991).

2.3.2.4. *psbA-trnH* Bölgesi

cpDNA genomu içerisinde histidin tRNA geni ile fotosistem II genleri arasında bulunan *psbA-trnH* bölgesi kodlanmayan diziler arasında yer almaktadır (Resim 2.9.). İntergenik ara bölge olan *psbA-trnH* bölgesi yüksek oranda insersiyon/delesyon gibi dizi farklılığına sebep olan durumları ve varyasyonları içermektedir (Kress ve Erickson, 2007). Bu nedenle de *psbA-trnH* bölgesi, türlerin ayrımı için gerçekleştirilen çalışmalar için büyük bir öneme sahiptir (Shaw ve ark., 2007).

Birçok DNA barkod bölgesinde olduğu gibi *psbA-trnH* bölgesinde de evrimsel barkod bölgesi olmasını engelleyici özellikler bulunmaktadır. Bu özellikle arasında çift yönlü dizi elde edilmesindeki zorluklar ve farklı bitki gruplarında sonuçların değişmesi bulunmaktadır. CBOL Bitki Çalışma Grubu tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda

psnA-trnH bölgesinin yaklaşık 418 bç uzunluğu DNA barkodlama çalışmaları için yeterli bulunmuştur (CBOL, 2009). Ancak farklı araştırmacılar tarafında yapılan çalışmalar sonucunda psbA-trnH bölgesinin 1.000 bç uzunluğa kadar değişebildiği ortaya çıkarılmıştır (Chase ve ark., 2007). Günümüzde hala bitki gruplarında kullanılan bölgelerin ayırım güçlerini belirlemek adına yapılan çalışmalarda, psbA-trnH bölgesi yaygın olarak tercih edilmektedir (Li ve ark., 2015).



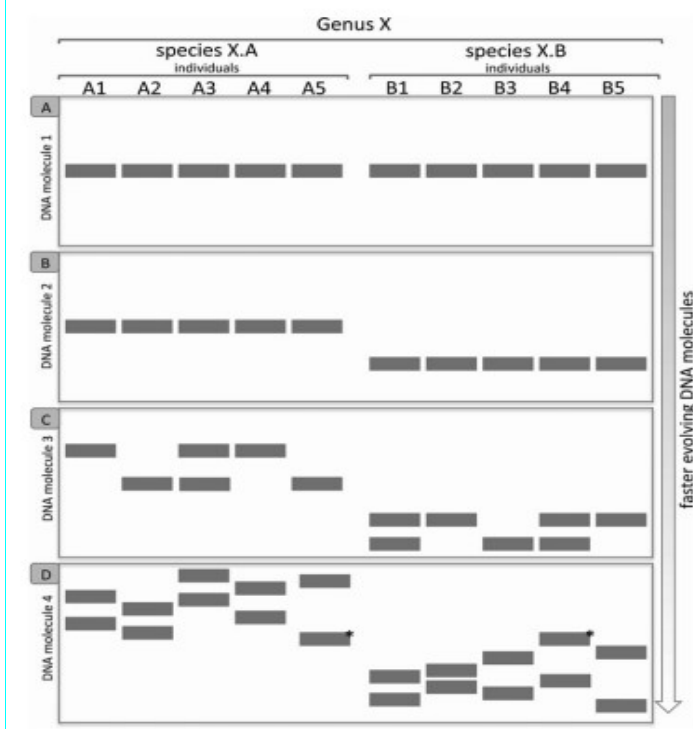
Resim 2.9. *trnH-psbA* intergenik aralayıcının yapısı ve primer pozisyonları (Phoolcharoen ve Sukrong, 2013).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada *Trigonella* cinsine ait taksonların, sekans varyasyonları ve benzerlikleri değerlendirilmek üzere, NCBI’da var olan bütün veriler taranmış, cpDNA’sından *matK* bölgesine ait 56 takson, *psbA-trnH* bölgesine ait 29 takson, *rbcL* bölgesine ait 21 takson, *rpoC1* bölgesine ait 3 takson, *trnL-trnF* bölgesine ait 56 takson ve nrDNA’sından *ITS1-ITS2* bölgelerine ait 130 takson, *GA3ox1* bölgesine ait 42 taksonun, var olan bütün dizi bilgileri birbirleriyle uyumlu ve anlamlı hale getirildikten sonra her bölge için ayrı ayrı toplanarak MEGAX programında analiz edilerek değerlendirilmiştir. *rpoC1* bölgesine ait sekans bilgilerin yetersiz olması nedeniyle çalışmaya dâhil edilmemiştir.

3.1. DNA SEKANSLAMASI YAPILAN BÖLGELERİN BELİRLENMESİ

Filogenetik ilişkileri açığa çıkarmak için seçilecek olan DNA barkod bölgesi birincil öneme sahiptir ve araştırmacılar moleküler taksonomi çalışmalarında seçilecek olan bölgeyi belirlerken çalışmada kullanılacak bölgenin türler arası ayırcılığı, tür içi ayırcılığı ve moleküler evrim hızının, çalışma için ne denli öneme sahip olduğu belirleyerek DNA sekans bölgesini seçmektedir. Resim 3.1. A’da gösterildiği gibi yavaş evrimleşen bir sekans dizisi, çalışılan türlerin ayırt edilmesine imkân tanımamaktadır, B’de orta hızda evrimleşen bir sekans, türlerin birlikte evrimleşmesine olanak sağlıyorsa çalışılan türlerin tanımlanmasına izin verir fakat tür içi ayırım yapamamaktadır, C’de genomda kopya sayısına sahip olan sekans dizileri, türlerin hem tanımlanmasına hem de tür içi ayırım yapılmasına olanak sağlamaktadır ve D’de yüksek evrimsel hızından dolayı bir mikrosatalit sekans dizisi seçilirse farklı türlerin karşılaştırılmasında meydana gelebilecek homoplaziden dolayı hatalı yorumlamalar ortaya çıkarılabileceği gösterilmiştir (Besse, 2020).



Resim 3.1. Seçilen DNA moleküllerinin evrimsel oranlarına bağlı farklılaşma gücü gösterilmektedir, A; yavaş evrimleşen sekans B; orta hızda evrimleşen sekans C; orta hızda evrimleşen ve genomda kopya sayısına sahip sekans D; yüksek hızda evrimleşen sekans (Besse, 2020).

DNA sekanslaması yapılacak bölgeler seçilirken yalnızca bölgenin evrimsel hızına değil daha önce yapılmış çalışmaların sonucu doğrultusunda, seçilecek bölgenin farklı türlerdeki ayırım yeteneğine göre de ayırım yapılmalıdır. Bu doğrultuda bitki grubu çalışmalarında barkod bölgesinin seçiminin kolaylaştırılması ve evrensel barkod bölgelerin belirlenmesi adına, CBOL farklı çalışma grupları ile değerlendirmeler yaparak barkod bölgelerin seçimini kolaylaştıracak araştırmalar yürütmektedir. CBOL tarafından gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, kodlama yapan *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1* bölgeleri ve kodlama yapmayan *atpF*–*atpH*, *trnH*–*psbA*, *psbK*–*psbI* bölgelerinin ayırım gücünün yüksek olduğu ve barkod adayları olarak tercih edilebileceği önerilse de farklı çalışma grupları içerisinde benzer sonuçlar ortaya koymadığı için belirlenen bölgeler bir netlik kazanamamıştır (CBOL, 2009). Bu nedenle de günümüzde bitki grupları için farklı barkod bölgelerinin kombinasyonları araştırılmaya devam etmektedir.

Bitki grupları için çalışılan bölgelerin kombinasyon denemeleri hem türlerin taksonomisi için yararlı olan barkodların belirlenmesine hem de tek başına anlamsız

olduğu düşünölen bölgelerin kombinasyonlar ile anlamlı datalar oluşturabildiğinin ortaya çıkmasını açıısından büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle bu çalışmada *Trigonella* cinsine ait türler için araştırmacıların hangi DNA sekans bölgesini seçtiği ve hangi kombinasyonları kullandığı belirlenerek, NCBI veri tabanı üzerinde bulunan, önerilen veya önerilmeyen bütün DNA barkod bölgeleri ile yapılmış olan çalışmalar, her bölge için ayrı ayrı belirlenerek, filogenetik analiz için değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışılan bölgelere ait var olan bütün türlerin sekans bilgisi, lokasyon bilgisi, bölgenin uzunluğu, bölgenin adı ve bölgeyi çalışan kişi/kişilerin referansları dikkate alınarak veri dataları oluşturulmuştur. Araştırmanın bu basamağında herhangi bir uyum gözetmeksizin bütün veriler toplanarak değerlendirilmiştir.

3.2. DNA SEKANS ANALİZLERİ YAPILAN BARKODLAMA BÖLGELERİNDEKİ TÜRLERİN BELİRLENMESİ

Çalışmada NCBI veri tabanı üzerinde toplanan cpDNA'sından *matK* bölgesine ait 56 takson, *psbA-trnH* bölgesine ait 29 takson, *rbcL* bölgesine ait 21 takson, *rpoC1* bölgesine ait 3 takson, *trnL-trnF* bölgesine ait 56 takson ve nrDNA'sından *ITS1-ITS2* bölgelerine ait 130 takson, *GA3ox1* bölgesine ait 42 takson, bölgelerin uyumuna göre elimine edilerek seçilmiştir. Bu basamakta var olan sekans bilgileri belirli öncelik sırasına göre seçilmiştir. Bu öncelik sırası NCBI veri tabanında bulunan bütün sekans bilgilerinin karşılaştırılabilir olması adına birçok literatür taraması yapılarak ve çalışmalarda kullanılan bölgelere ait sekans bilgilerinin birbirleriyle uyumlu hale getirilmesi ile sağlanmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere toplanan veriler öncelikli olarak, her tür için kullanılan bölgelerin uyumu incelenerek seçilmiştir. Bu uyum kullanılan bölgelerin aynı bölgeye ait olması, kısmi veya tüm bölgeyi içermesi, genler arası bölgeleri için hangi iki genin arasında olduğu ve ilk gen ile son genini uyumu dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte aynı türün örnekleri seçilirken farklı çalışmalara ait örnekler tercih edilmiştir. Ardından kalan veriler her bölge için uygun olan uzunluğa göre seçilmiş, kullanılan bölgeye ait türlerden aynı tür ile çalışılmış olan bireyler birleştirilerek değerlendirilmiştir. Bu adımda sekans bilgisi birleştirilecek olan bireylerin, aynı tür, aynı birey ve aynı lokasyon da bulunan bireyler olması dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.HER BİR BARKODLAMA BÖLGESİ İÇİN, BELİRLENEN TÜRLERİN SEKANS ANALİZLERİ

Trigonella cinsine ait çalışılan türlerde, kloroplast genoma ait *matK* gen bölgesi, *psbA-trnH* genler arası bölge, *rbcL* gen bölgesi, *rpoC1* gen bölgesi, *trnL-trnF* genler arası bölge ve nükleer genoma ait *ITS1-ITS2* genler arası bölge, *GA3ox1* gen bölgesi, DNA sekans bölgelerinin belirlenmesi aşamasında, belirlenen hususlar doğrultusunda uyumlu hale getirildikten sonra MEGA X programı ile hizalandırılmıştır. Her bölge için ayrı ayrı hizalandırmalar yapılırken daha verimli sonuçlar elde etmek amacıyla sekans bilgileri üzerindeki hatalı-eksik ve boşluk içeren veriler MEGAX programının complete deletion özelliği kullanılarak silinmiştir.

3.3.1 Nükleer DNA'ya Ait Bölgelerin Sekans Analizleri

NCBI veri tabanında *Trigonella* cinsine ait türlerde *ITS1-ITS2* bölgelerine ait 130 takson ve *GA3ox1* bölgesine ait 42 takson çalışılmış olup, bütün veriler hiçbir ayırım gözetmeden toplanmıştır ve belirlenen önceliklere göre seçilip, kategorize edildikten sonra her iki bölge için ayrı ayrı MEGA X programına sekans bilgileri yüklenerek hizalandırılma işlemleri yapılmıştır. Bu doğrultuda çalışılan bölgelerin ayırım güçlerinin belirlenmesi, NCBI veri tabanındaki dataların kalite kontrolünün tartışılması, *Trigonella* cinsi içerisinde bulunan taksonomik problemlerin giderilmesine katkı sağlanması amacıyla her lokus için varyasyon gösteren bölgelerin belirlenmesi, bir bazın diğer baza değişim durumlarının açığa çıkarılması, transisyon/transversiyon oranlarının hesaplanması, nükleotid frekanslarının belirlenmesi ve MP dendrogramlarının oluşturulması işlemleri gerçekleştirilerek değerlendirilmiştir.

3.3.1.1. *ITS1- ITS2* Bölge Analizleri

Nükleer genomda yer alan genler arasında bulunan bir bölge olan ITS bölgeleri, içerdiği varyasyon oranlarından dolayı bitki gruplarında sıklıkla tercih edilen bir bölgedir. *Trigonella* türleri içinde NCBI veri tabanında yaygın olarak çalışılmış bir bölgedir. Bu nedenle çalışmada kullanılmak üzere *Trigonella* türlerine ait ITS sekans bilgileri, NCBI veri tabanı üzerinde belirlenerek, var olan bütün dizi bilgileri sağlanmıştır.

NCBI veri tabanı üzerinde farklı çalışmalara ait; 5.8S-ITS2-28S bölgesine ait 29 takson, 18S-ITS1-5.8S bölgesine ait 8 takson, 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S bölgesine ait 81

takson, ITS1-5.8S-ITS2-26S bölgesine ait 3 takson, ITS1-5.8S-ITS2-28S bölgesine ait 2 takson, yalnızca ITS1 bölgesine ait 2 takson ve yalnızca ITS2 bölgesine ait 5 taksona ait sekans bilgileri bulunmaktadır. Var olan bu bölgeler, çalışmanın kapsamını arttırmak amacıyla birbiriyle uyumlu hale getirilerek seçilmiş, ardından kalan sekanslar için aynı bireye ait türlerde çalışılmış örneklerin ITS1 ve ITS2 bölgelerine ait sekans bilgileri belirlenerek birleştirilmiştir. Bu doğrultuda var olan 130 taksona ait sekans bilgilerinde ortak olan ITS1 ve ITS2 bölgeleri dizi bilgileri içerisinden kesilerek, uyumlu hale getirilmiştir.

Çizelge 3.1’ de gösterildiği gibi uyumlu hale getirilen taksonlar çalışmaya dâhil edilmiştir. Toplamda ITS1 ve ITS2 bölgelerine ait bulunan 130 taksondan 28 tanesi birbirleriyle uyumlu ve anlamlı olacak şekilde seçilerek, MEGA X programına yüklenmiş, hızlandırılmış ve analiz için, varyasyon gösteren bölgeler, bir bazın diğer baza değişim durumları, transisyon/transversiyon oranları, nükleotid frekansları ve filogenetik ilişkileri ortaya koyan Maximum Parsimony (MP) dendrogramı oluşturularak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1. *ITS1-ITS2* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella gladiata 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	AF154351,AF154576
<i>Trigonella gladiata 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	KX788067
<i>Trigonella spinosa</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	AF154350,AF154575
<i>Trigonella emodi</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	MW241812
<i>Trigonella cachemiriana</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	MW241778
<i>Trigonella orthoceras</i>	<i>Bucerates</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	MW241772
<i>Trigonella monantha</i>	<i>Bucerates</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	MW241768
<i>Trigonella cancellata</i>	<i>Bucerates</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	MW241764
<i>Trigonella brachycarpa</i>	<i>Lunatae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	GQ246121
<i>Trigonella caerulea</i>	<i>Capitatae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	GQ488542
<i>Trigonella Foenum-graecum 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	GQ488543
<i>Trigonella Foenum-graecum 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	HM176649
<i>Trigonella corniculata</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	KX788066
<i>Trigonella cretica</i>	<i>Samaroidea</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	KX788065
<i>Trigonella coerulescens</i>	<i>Biebersteinianae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	KX788064
<i>Trigonella balansae</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	KX788063
<i>Trigonella Foenum-graecum 3</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	DQ312196
<i>Trigonella stellata 1</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	GQ488544
<i>Trigonella stellata 2</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	AJ288209,AJ288233
<i>Trigonella spruneriana</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	AJ288208,AJ288232
<i>Trigonella spicata</i>	<i>Uncinata</i>	<i>ITS1-ITS2</i>	AJ288207,AJ288231

<i>Trigonella macrorrhyncha</i>	<i>Foenum-graecum</i>	ITS1-ITS2	AJ288205,AJ288229
<i>Trigonella kotschyii</i> 1	<i>Cylindricae</i>	ITS1-ITS2	KX788068
<i>Trigonella kotschyii</i> 2	<i>Cylindricae</i>	ITS1-ITS2	AJ288204,AJ288228
<i>Trigonella arabica</i> 1	<i>Falcatulae</i>	ITS1-ITS2	KX788069
<i>Trigonella arabica</i> 2	<i>Falcatulae</i>	ITS1-ITS2	AJ288201,AJ288225
<i>Trigonella gracilis</i>	<i>Ellipticae</i>	ITS1-ITS2	AJ288203,AJ288227
<i>Trigonella calliceras</i>	<i>Callicerates</i>	ITS1-ITS2	AJ288202,AJ288226

3.3.1.2. *GA3ox1* Bölgesi Analizleri

Bitki grupları için büyümeden sorumlu gen bölgesi olan ve bitki filogenisi için büyük bir öneme sahip olan *GA3ox1* gen bölgesi, *Trigonella* cinsine ait türlerde filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılması adına, barkod bölgesi olarak kullanılmıştır. *GA3ox1* gen bölgesine ait *Trigonella* taksonlarının sekans bilgileri çalışmaya dâhil edilmek üzere NCBI veri tabanından seçilerek değerlendirilmiştir.

NCBI veri tabanı üzerinde var olan ve toplanan 42 taksona ait dizi bilgileri ile yapılan çalışmalar birbirleriyle uyumlu ve karşılaştırılabilir hale getirilmek üzere elimine edilerek 19 taksona indirilmiştir. Bölgeye ait NCBI veri tabanında bulunan veriler, *GA3ox1* gen bölgesinin kısmi sekans bilgisi veya tamamına ait sekans bilgisinin dizilenmesine göre ayrıştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında doğru veri setleri oluşturmak adına, çalışmaların genelinde ortak çalışılmış bölge seçilerek çalışmaya dâhil edilmiştir.

Çizelge 3.2.'de NCBI veri tabanı üzerinde bulunan 42 taksondan uyumlu hale getirilerek çalışmaya dâhil edilen taksonlar gösterilmiştir. Birbiriyle uyumlu hale getirilen 19 taksona ait sekans bilgileri, *GA3ox1* gen bölgesinin *Trigonella* cinsi için ayırım gücünün ortaya çıkarılması, NCBI veri tabanında bulunan sekans bilgilerinin doğruluğunun tartışılması ve *Trigonella* cinsi içerisinde bulunan taksonomik problemlerin giderilmesine katkı sağlamak amacıyla, MEGA X programına aktararak hizalandırılmış, varyasyon gösteren bölgeler, bir bazın diğer baza değişim durumları, transisyon/transversiyon oranları, nükleotid frekansları ve filogenetik ilişkileri ortaya koyan MP dendrogramı oluşturularak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.2. *GA3ox1* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella emodi</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>GA3ox1</i>	MW242342
<i>Trigonella cachemiriana</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>GA3ox1</i>	MW242309
<i>Trigonella orthoceras</i>	<i>Bucerates</i>	<i>GA3ox1</i>	MW242303
<i>Trigonella monantha</i>	<i>Bucerates</i>	<i>GA3ox1</i>	MW242299
<i>Trigonella cancellata</i>	<i>Bucerates</i>	<i>GA3ox1</i>	MW242295
<i>Trigonella spruneriana</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211170
<i>Trigonella macrorrhyncha</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211168
<i>Trigonella kotschyii</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211167
<i>Trigonella gladiata</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211165
<i>Trigonella Foenum-graecum</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211164
<i>Trigonella elliptica</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211163
<i>Trigonella cretica</i>	<i>Samaroidea</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211162
<i>Trigonella corniculata</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211161
<i>Trigonella coerulescens</i>	<i>Biebersteinianae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211160
<i>Trigonella caerulea</i>	<i>Capitatae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211159
<i>Trigonella calliceras</i>	<i>Callicerates</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211158
<i>Trigonella balansae</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211156
<i>Trigonella arabica</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211155
<i>Trigonella anguina</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>GA3ox1</i>	HM211154

3.3.2 Kloroplast DNA'ya Ait Bölgelerin Sekans Analizleri

Bu çalışmada filogenetik ilişkilerin ve evrimsel ilişkilerin ortaya çıkarılmasında yaygın olarak kullanılan cpDNA bölgelerine ait sekans bilgileri, NCBI veri tabanında bulunan ve *Trigonella* türlerine ait var olan bütün bilgiler tespit edilerek belirlenmiş, hiç bir ayrım gözetmeksizin toplanmıştır.

NCBI veri tabanı üzerinden sağlanan, cpDNA'sında yer alan *matK* bölgesine ait 56 takson, *psbA-trnH* bölgesine ait 29 takson, *rbcL* bölgesine ait 21 takson, *rpoC1* bölgesine ait 3 takson ve *trnL-trnF* bölgesine ait 56 takson ayrı ayrı toplandıktan sonra çalışma kapsamında belirlenen şartlar doğrultusunda uyumsuz olan veriler, anlamsız veriler ve hatalı veriler elimine edilerek uyumlu hale getirilmiştir. Ardından her bölge ayrı ayrı MEGA X programına aktararak hizalandırılmış, hizalandırılan sekans bölgeleri her bölge için varyasyon gösteren bölgelerin ortaya çıkarılması, bir bazın diğer baza değişim durumlarının saptanması, transisyon/transversiyon oranlarının hesaplanması, nükleotid frekanslarının hesaplanması, MP dendrogramlarının oluşturulması aşamalarından geçirilerek değerlendirilmiştir.

3.3.2.1. *MatK* Bölgesi Analizleri

CBOL tarafından yapılan çalışmalar sonucunda alınan yüksek ayırım yeteneğinden dolayı sıklıkla tercih edilen fakat evrimsel bir barkod bölgesi olabilmesi için yeterli çalışma yapılmamış olan *matK* gen bölgesine ait, NCBI veri tabanında sekans bilgisi olan, çalışılmış bütün *Trigonella* türlerine ait diziler bu çalışmada karşılaştırılmak ve değerlendirilmek üzere toplanmıştır.

NCBI veri tabanı üzerinden toplanan 56 taksonun sekans bilgisi diğer bölgelerde olduğu gibi uyumlu hale getirilmek üzere çalışma kapsamında belirlenen şartlar doğrultusunda elimine edilmiştir. Çalışmada kullanılmak 56 taksondan anlamlı olarak seçilen 20 taksona ait sekans bilgisi MEGAX programına aktarılarak hizalandırılmıştır (Çizelge 3.3). Var olan taksonlara ait sekans bilgileri MEGAX programında, varyasyon gösteren bölgelerin tespit edilmesi, bir bazın diğer baza değişim durumlarının hesaplanması, transisyon/transversiyon oranlarının hesaplanması, nükleotid frekanslarının tespiti ve filogenetik ilişkilerinin açığa çıkarılması için MP dendrogramının oluşturularak elde edilen sonuçlar doğrultusunda değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.3. *matK* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella orthoceras</i>	<i>Bucerates</i>	<i>matK</i>	MW241996
<i>Trigonella cancellata</i>	<i>Bucerates</i>	<i>matK</i>	MW241992
<i>Trigonella monantha</i>	<i>Bucerates</i>	<i>matK</i>	MW241988
<i>Trigonella emodi</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>matK</i>	MW241872
<i>Trigonella cachemiriana</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>matK</i>	MW241851
<i>Trigonella spruneriana</i>	<i>Cylindrica</i>	<i>matK</i>	AF522151
<i>Trigonella macrorrhyncha</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>matK</i>	AF522150
<i>Trigonella kotschyii</i>	<i>Cylindrica</i>	<i>matK</i>	AF522149
<i>Trigonella gladiata</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>matK</i>	AF522148
<i>Trigonella Foenum-graecum 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>matK</i>	MN167192
<i>Trigonella Foenum-graecum 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>matK</i>	MN243302
<i>Trigonella cretica</i>	<i>Samaroidea</i>	<i>matK</i>	AF522146
<i>Trigonella corniculata</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>matK</i>	AF522145
<i>Trigonella coerulescens</i>	<i>Biebersteinianae</i>	<i>matK</i>	AF522144
<i>Trigonella caerulea</i>	<i>Capitatae</i>	<i>matK</i>	AF522143
<i>Trigonella calliceras</i>	<i>Callicerates</i>	<i>matK</i>	AF522142
<i>Trigonella balansae</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>matK</i>	AF522140
<i>Trigonella arabica</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>matK</i>	AF522139
<i>Trigonella elliptica</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>matK</i>	HM159594
<i>Trigonella anguina</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>matK</i>	HM159593

3.3.2.2.. *rbcL* Bölgesi Analizleri

Birçok bitki grubu için barkod bölgesi olarak tercih edilen *rbcL* gen bölgesine ait, NCBI veri tabanında var olan ve *Trigonella* cinsine ait toplam yalnızca 21 taksona ait dizi bilgisi bulunmaktadır. Bu çalışmada araştırmacılar tarafından yaygın olarak tercih edilen fakat *Trigonella* türleri için yetersiz olan *rbcL* gen bölgesine ait NCBI veri tabanında bulunan bütün veriler değerlendirilmek üzere belirlendikten sonra toplanmıştır. Toplanan verilerin birbirleriyle karşılaştırılabilir uyumluluğa getirilmesi için çalışma kapsamında belirlenen şartlar doğrultusunda elimine işlemleri yapılmış ve bu barkod bölgesine ait 13 takson çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen, birbirleriyle uyumlu 13 taksona ait dizi bilgisi MEGAX programına yüklenerek hizalandırma işlemleri yapılmıştır (Çizelge 3.4). Ardından taksonlar arasındaki ilişkiler değerlendirilmek üzere, varyasyon gösteren bölgelerin belirlenmesi, bir bazın diğer baza olan değişim durumları, transisyon/transversiyon oranları, nükleotit frekansları ve filogenetik dendrogramı(MP dendrogram) oluşturulmuştur. Elde edilen veriler türler arası ilişkilerin açığa çıkarılması ve NCBI veri tabanında bulunan, aynı taksona ait bireylerin sekans bilgilerinin doğruluğunun karşılaştırmaları yapılarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.4. *rbcL* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella stellata 1</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	KX283088
<i>Trigonella hamosa</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	KX283086
<i>Trigonella anguina 1</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	KX283083
<i>Trigonella anguina 2</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	MN783868
<i>Trigonella Foenum-graecum 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>rbcL</i>	MN167235
<i>Trigonella Foenum-graecum 3</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>rbcL</i>	MN216599
<i>Trigonella caerulea</i>	<i>Capitatae</i>	<i>rbcL</i>	MG248839
<i>Trigonella corniculata</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	MG246636
<i>Trigonella stellata 2</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	KX789410
<i>Trigonella Foenum-graecum 4</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>rbcL</i>	KX283357
<i>Trigonella Foenum-graecum 5</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>rbcL</i>	MK090331
<i>Trigonella ornithopodioides</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>rbcL</i>	JQ933512
<i>Trigonella Foenum-graecum 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>rbcL</i>	MG946901

3.3.2.2. *trnL-trnF* Bölgesi Analizleri

DNA barkodlama çalışmalarında, kodlama yapan bölgelere oranla çok daha fazla varyasyon barındıran intergenik ara bölgeler yaygın olarak tercih edilmektedir.

Kloroplast genomunda yer alan *trnL-trnF* genler arası bölgede DNA barkodlama çalışmalarında yaygın olarak tercih edilen bölgeler arasında yer almaktadır. Bu çalışmada taksonomisi değerlendirilen *Trigonella* cinsine ait türlerde çalışılmış *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgileri NCBI veri tabanı üzerinden tespit edilmiş, yalnızca *trnL* bölgesine ait 2 takson, *trnL-trnF* bölgesine ait 54 taksona ait dizi bilgisi herhangi bir uyum gözetmeksizin toplanmıştır. *Trigonella* cinsine ait verilerin kapsamlı değerlendirilebilmesi için var olan sekans bilgileri arasında çoğunluğun uyum gösterdiği diziler seçilerek 24 takson çalışmaya dâhil edilmiştir (Çizelge 3.5). NCBI veri tabanı üzerinden sağlanan ve uyumlu hale getirilen sekans bilgileri MEGA X programına yüklenerek hizalandırılmıştır.

Hizalandırılan sekans bilgileri cinse ait tür içi ilişkilerin ortaya çıkarılabilmesi, çalışılan bölgenin bu cins için ayırım yeteneğinin belirlenmesi ve NCBI veri tabanında bulunan sekans bilgilerinin doğruluğu ve kalite kontrolünün sağlanabilmesi adına, varyasyon gösteren bölgelerin belirlenmesi adına, bir bazın diğer baza olan değişim durumlarının belirlenmesi, transisyon/transversiyon oranlarının hesaplanması, nükleotid frekanslarının hesaplanması ve MP dendrogramlarının oluşturulması işlemleri uygulanarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.5. *trnL-trnF* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella Foenum-graecum 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>trnL-trnF</i>	GQ488616
<i>Trigonella caerulea 1</i>	<i>Capitatae</i>	<i>trnL-trnF</i>	GQ488615
<i>Trigonella coelesyriaca</i>	<i>Verae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274144
<i>Trigonella balansae</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274139
<i>Trigonella suavisissima</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274187
<i>Trigonella strangulata</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274185
<i>Trigonella stellata</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274184
<i>Trigonella spinosa</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274183
<i>Trigonella spicata</i>	<i>Uncinata</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274182
<i>Trigonella schlumbergeri</i>	<i>Erosae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274178
<i>Trigonella mesopotamica</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274172
<i>Trigonella maritima</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274171
<i>Trigonella kotschyii</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274169
<i>Trigonella grandiflora</i>	<i>Verae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274166
<i>Trigonella gladiata</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274165
<i>Trigonella Foenum-graecum 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274163
<i>Trigonella filipes</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274158
<i>Trigonella cylindracea</i>	<i>Cylindricae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274155

<i>Trigonella cretica</i>	<i>Samaroidea</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274153
<i>Trigonella coerulescens</i>	<i>Biebersteinianae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274150
<i>Trigonella calliceras</i>	<i>Callicerates</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274148
<i>Trigonella caerulea 2</i>	<i>Capitatae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274146
<i>Trigonella arabica</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274136
<i>Trigonella anguina</i>	<i>Falcatulae</i>	<i>trnL-trnF</i>	JX274134

3.3.2.3. *PsbA-trnH* Bölgesi Analizleri

Günümüzde bitki grupları için seçilen barkod bölgeleri arasında yaygın olarak kullanılan *psbA-trnH* bölgesine ait NCBI veri tabanı üzerinde birçok sekans bilgisi bulunmaktadır. Bu çalışmada materyal olarak seçilen *Trigonella* cinsine ait ise NCBI veri tabanında 29 taksona ait veri bulunmaktadır. Çalışmanın amacı doğrultusunda NCBI veri tabanının var olan bütün veriler uyumları gözetilmeksizin toplanmış ardından var olan taksonlar arasında bölge uyumsuzluğu olan, sekans uzunluğu uyumsuz olan veriler çıkarılarak 10 takson çalışmaya dâhil edilmiştir (Çizelge 3.6). Çalışmada kullanılmak üzere seçilen taksonlara ait sekans bilgileri MEGAX programına yüklenerek hızlandırılmış, taksonlar arası ilişkilerin belirlenmesi, *psbA-trnH* bölgesinin *Trigonella* cinsi için ayırım gücünün ortaya koyulması adına, varyasyon gösteren bölgelerin ortaya çıkarılması, taksonlar arası *psbA-trnH* bölgesinde gözlenen bir bazın diğer baza değişim durumları, transisyon/transversiyon oranlarının hesaplanması, nükleotid frekanslarının hesaplanması ve MP dendrogramının oluşturulması işlemleri gerçekleştirilerek değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.6. *psbA-trnH* bölgesi için çalışmaya dâhil edilen taksonlar/seksiyonları ve Gen Bankası kodları

Tür	Seksiyon	Bölge	Gen Bankası Kodları
<i>Trigonella emodi</i> var. <i>fimbriata</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242159
<i>Trigonella emodi</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242164
<i>Trigonella cachemiriana</i>	<i>Ellipticae</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242153
<i>Trigonella orthoceras</i>	<i>Bucerates</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242113
<i>Trigonella cancellata</i>	<i>Bucerates</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242110
<i>Trigonella monantha</i>	<i>Bucerates</i>	<i>psbA-trnH</i>	MW242106
<i>Trigonella Foenum-graecum 1</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>psbA-trnH</i>	EU531711
<i>Trigonella Foenum-graecum 2</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>psbA-trnH</i>	MK578169
<i>Trigonella Foenum-graecum 3</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>psbA-trnH</i>	MG947135
<i>Trigonella Foenum-graecum 3</i>	<i>Foenum-graecum</i>	<i>psbA-trnH</i>	EU531710

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

4.1.1. *ITS1- ITS2* Bölgelerinin Sonuçları

Çalışma için seçilen *ITS1-ITS2* genler arası bölgelere ait sekans bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra daha verimli veriler elde etmek amacı ile programın “complete deletion” özelliği kullanılarak hatalı, eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır. *ITS1-ITS2* bölgesine ait var olan *Trigonella* taksonlarının 510 nükleotidlik hizalandırılmış sekans bilgisi çalışmada kullanılmıştır. Bu bölgeye ait sekans bilgileri dikkate alınarak 28 *Trigonella* taksonu incelenmiş, türler arasında 117 varyasyon içeren bölge tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

ITS1-ITS2 bölgelerine ait sekans bilgisi içerisinde en az iki farklı nükleotidin, en az iki tekrarı ile oluşan Parsim info bölgeleri, MEGAX programında hesaplanarak 115 adet olduğu tespit edilmiştir. *Trigonella* taksonlarının *ITS1-ITS2* bölgesine ait olan sekans bilgilerinde var olan bir bazın diğer baza olan değişimleri hesaplanarak çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.3.). Çizelgede koyu olarak yazılan değerler transisyonel değişimleri, italik olarak yazılan değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir. Oluşturulan çizelge incelendiğinde baz değişimlerinin %54,7’sini transisyonel baz değişimlerinden meydana geldiği, %45,28’inin ise transversiyonel baz değişimleri olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3.). Bunlara ilaveten pirimidinler ve pürinler için transisyon\transversiyon oranları MEGAX programı ile hesaplanarak çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.4.).

Pirimidinler ve pürinler için hesaplanan transisyon\transversiyon oranları pirimidinler için 2,838, pürinler için 1,985 ve genel transisyon\transversiyon oranının 1,191 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.). Seçilen genler arası bölgelerine ait, çalışmaya dâhil edilen 28 *Trigonella* taksonunun 510 nükleotidlik DNA sekans bilgisinin nükleotid frekansları hesaplanarak çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.5.).

Çalışmada kullanılan *Trigonella* taksonlarının seçilen *ITS1-ITS2* bölgelerine ait sekans bilgileri, tür içi akrabalık ilişkilerin ortaya çıkarılması ve seçilen *ITS1-ITS2*

bölgesinin bu cins için ayırım gücünün belirlenmesi amacıyla MP)dendrogramı oluşturularak seksiyon bilgileri eklenmiştir (Resim 4.1.)

Çizelge 4.1. *ITS1-ITS2* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon bulunan bölge sayısı	Parsim Info	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyonel değişimler (%)	Transisyonel/Transversiyonel Değişim Oranları	Pürin (k ₁)	Pirimidin (k ₂)	Genel (R)	Nükleotid Frekansları (%)	A+T/U	G+C
<i>ITS1-ITS2</i>	28	510	117	115	54,7	45,28	1,985	2,838	1,191	49,06	50,94		

Çizelge 4.2. Çalışılan türler ve *ITS1-ITS2* bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler

Türler

Sekans Bilgisi

	3	3	4	4	4	4	5	5	6	6	6	6	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	7	9	2	7	8	9	5	9	0	1	2	6	1	2	3	4	8	9	1	3	4	5	7	8	9			
<i>T. gladiata 1</i>	T	G	C	A	T	A	G	G	T	T	G	G	T	A	A	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A			
<i>T. spinosa</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. emodi</i>	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	G	G	.	.	G	.	.	.
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	G	G	.	.	G	.	.	.
<i>T. orthoceras</i>	C	.	T	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	C	C	A	.	.	.	G	G	T	.	.	.	.	.	.
<i>T. monantha</i>	C	.	T	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	C	C	A	.	.	.	G	G	T	.	.	.	.	.	.
<i>T. cancellata</i>	C	.	T	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	C	C	A	.	.	.	G	G	T	.	.	.	.	.	.
<i>T. brachycarpa</i>	.	.	T	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	C	C	A	.	.	.	G	G	T	.	.	.	.	.	.
<i>T. stellata 1</i>	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	A	C	G	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. arabica 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	.	T	G	.	.	.	G	.	.	.
<i>T. kotschyii 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
<i>T. gladiata 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	T	G	G	.	.	G	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. balansae</i>	.	.	.	C	.	.	.	A	.	C	.	.	.	.	.	.	A	C	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 3</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. stellata 2</i>	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	A	C	G	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. spruneriana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. spicata</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.	.
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. kotschyii 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	G	.	.	.	.	.	.
<i>T. arabica 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	.	T	G	.	.	.	G	.	.	.
<i>T. gracilis</i>	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	T	G	G	.	.	G	.	.	.

Çizelge 4.2. Devam

Türler

Sekans Bilgisi

	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	9	0	0	0	0	1	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	5	5	6	8	8	8	9	9	9
	5	0	1	2	7	2	7	2	3	4	6	7	9	0	2	4	2	3	3	5	8	9	1	2	8
<i>T. gladiata 1</i>	A	C	A	G	G	A	T	G	T	T	T	C	T	C	G	G	A	C	G	A	A	T	T	T	T
<i>T. spinosa</i>	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T. emodi</i>	.	.	G	A	.	C	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	G
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	G	A	.	C	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	G
<i>T. orthoceras</i>	T	.	.	.	A	.	A	.	.	C	.	A	.	.	.	.	C	T	.	T	.	.	.	.	G
<i>T. monantha</i>	T	.	.	.	A	.	A	.	.	C	.	A	.	.	.	.	C	T	.	T	.	.	.	.	G
<i>T. cancellata</i>	T	.	.	.	A	.	A	.	.	C	.	A	.	T	.	.	C	T	.	T	.	.	.	.	G
<i>T. brachycarpa</i>	T	.	.	.	A	.	A	.	.	C	.	A	.	T	.	.	C	T	.	T	.	.	.	.	G
<i>T. stellata 1</i>	.	.	.	A	.	.	A	A	C	.	.	.	.	T	.	C	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T.foenum-graecum 1</i>	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	G	C	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	G
<i>T.foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G
<i>T. arabica 1</i>	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T. kotschyii 1</i>	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
<i>T. gladiata 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	.	.	G	A	.	C	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	G
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	G
<i>T. coerulescens</i>	G	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	G
<i>T. balansae</i>	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T.foenum-graecum 3</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G
<i>T. stellata 2</i>	.	.	.	A	.	.	A	A	C	.	.	.	.	T	.	C	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T. spruneriana</i>	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
<i>T. spicata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	G
<i>T. macrorrhyncha</i>	G	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	G
<i>T. kotschyii 2</i>	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G
<i>T. calliceras</i>	.	T	G	A	.	G	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
<i>T. arabica 2</i>	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	A
<i>T. gracilis</i>	.	.	G	A	.	C	C	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	A	.	G

Çizelge 4.2. Devam

Türler	Sekans Bilgisi																										
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	5	5	5	5	6	
	0	2	3	5	6	7	8	0	1	4	2	4	5	6	7	9	0	1	4	5	6	1	7	8	0		
<i>T. gladiata 1</i>	G	G	C	A	C	C	T	C	T	A	G	T	C	G	T	C	G	G	T	A	C	T	T	G	T		
<i>T. spinosa</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	A		
<i>T. emodi</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. orthoceras</i>	.	.	.	T	T	.	.	.	C	G	T	.	.	.	.	.	.	.	G	T	.	C	A	G			
<i>T. monantha</i>	.	.	.	T	T	.	.	.	C	G	T	.	.	.	.	.	.	.	G	T	.	C	A	G			
<i>T. cancellata</i>	.	A	.	G	T	.	.	.	C	G	T	.	.	.	.	.	.	.	G	T	.	C	A	G			
<i>T. brachycarpa</i>	C	A	.	G	.	.	.	.	C	G	T	.	.	.	.	.	A	A	.	G	T	.	C	A	G		
<i>T. stellata 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G			
<i>T. foenum-graecum 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	C	C	A	.		
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. arabica 1</i>	.	.	G	G	.	T	.	T	.	G	.	C	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G			
<i>T. kotschyii 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. gladiata 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	G	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. balansae</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G			
<i>T. foenum-graecum 3</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. stellata 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G			
<i>T. spruneriana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. spicata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. kotschyii 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. calliceras</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		
<i>T. arabica 2</i>	.	.	G	G	.	T	.	T	.	G	.	C	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	G			
<i>T. gracilis</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.		

Çizelge 4.2. Devam

Türler

Sekans Bilgisi

	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
	7	7	7	8	8	9	9	9	9	9	0	1	1	1	1	5	5	5	7	7	7	7	8	8	8	
	7	8	9	4	7	4	6	7	8	9	9	2	3	5	6	4	8	9	3	4	5	7	0	3	8	
<i>T. gladiata 1</i>	T	T	T	A	T	A	T	C	C	T	G	G	T	C	A	T	A	T	T	T	G	T	G	C	G	
<i>T. spinosa</i>	.	C	.	.	.	.	.	G	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. emodi</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. cachemiriana</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. orthoceras</i>	C	C	.	.	.	.	.	G	A	A	A	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. monantha</i>	C	C	.	.	.	.	.	G	A	A	A	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. cancellata</i>	C	C	.	.	.	G	.	G	A	A	T	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. brachycarpa</i>	C	C	.	.	.	.	.	G	A	A	A	T	.	T	G	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. stellata 1</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. foenum-graecum 1</i>	.	C	A	.	.	T	.	A	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	G	C	T	.	
<i>T. caerulea</i>	.	C	.	.	C	T	C	A	A	.	A	.	G	.	.	.	.	.	C	.	C	.	G	C	T	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	C	A	.	.	T	.	A	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. arabica 1</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.
<i>T. kotschyii 1</i>	.	C	.	C	.	T	.	G	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	T	C	
<i>T. gladiata 2</i>	.	C	.	.	T	.	.	A	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. corniculata</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. cretica</i>	.	C	.	.	.	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	G	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	.	T	.	G	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. balansae</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. foenum-graecum 3</i>	.	C	A	.	.	T	.	A	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. stellata 2</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. spruneriana</i>	.	C	.	.	.	T	.	G	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. spicata</i>	.	C	.	.	.	T	.	G	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	.	T	.	G	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. kotschyii 2</i>	.	C	.	C	.	T	.	G	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	T	C	
<i>T. calliceras</i>	.	C	C	.	.	T	.	G	A	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	G	C	T	.	
<i>T. arabica 2</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	C	T	.	
<i>T. gracilis</i>	.	C	.	.	C	T	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.	C	C	C	.	G	C	T	.	

Çizelge 4.2. Devam

Türler

Sekans Bilgisi

	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	8	9	9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4
	9	4	5	3	4	7	8	0	3	5	8	9	0	1	2	5	7	7
<i>T. gladiata 1</i>	C	G	A	T	T	G	C	G	C	A	A	G	A	C	C	T	G	
<i>T. spinosa</i>	G	.	T	.	A	.	T	A	G	G	.	.	G	.	.	.	.	.
<i>T. emodi</i>	G	.	T	.	A	.	T	.	G	.	.	.	G	.	T	C	.	.
<i>T. cachemiriana</i>	G	.	T	.	A	.	T	.	G	.	.	.	G	.	T	C	.	.
<i>T. orthoceras</i>	G	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. monantha</i>	G	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. cancellata</i>	G	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.
<i>T. brachycarpa</i>	G	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. stellata 1</i>	G	.	T	A	A	.	T	.	T	.	.	T	G	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 1</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	G	A	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. arabica 1</i>	G	.	T	.	A	C	T	A	G	T	.	.	G	.	.	.	.	.
<i>T. kotschyii 1</i>	G	A	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	G	T	.	.	.
<i>T. gladiata 2</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	G	.	T	.	A	.	T	.	G	.	.	.	G	.	T	C	.	.
<i>T. cretica</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	G	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	.
<i>T. balansae</i>	G	.	T	A	A	.	T	.	T	.	.	T	G	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 3</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. stellata 2</i>	G	.	T	A	A	.	T	.	T	.	.	T	G	.	.	.	.	.
<i>T. spruneriana</i>	G	A	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	G	T	.	.	.
<i>T. spicata</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	G	T	C	.	.
<i>T. macrorrhyncha</i>	G	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	.
<i>T. kotschyii 2</i>	G	A	T	.	.	.	T	.	.	.	.	T	T	G	T	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	G	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
<i>T. arabica 2</i>	G	.	T	.	A	C	T	A	G	T	.	.	G	.	.	.	.	.
<i>T. gracilis</i>	G	.	T	.	A	.	T	.	G	.	.	.	G	.	T	C	.	.

Çizelge 4.3. *ITS1-ITS2* gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

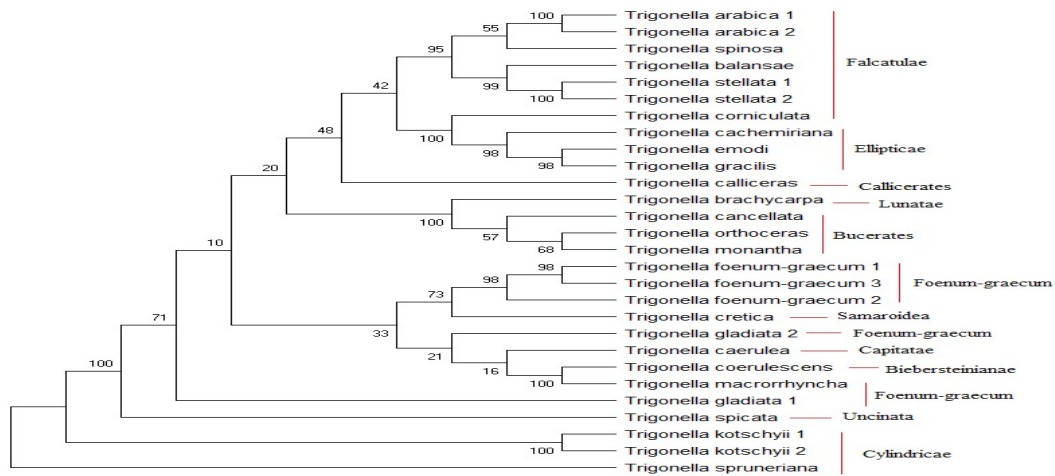
	A	T	C	G
A	-	6,31	5,1	12,77
T	4,8	-	14,49	6,43
C	4,8	17,91	-	6,43
G	9,53	6,31	5,1	-

Çizelge 4.4. *ITS1-ITS2* bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pirimidinler	2,838
Pürinler	1,985
Genel	1,191

Çizelge 4.5. Her baz için *ITS1-ITS2* bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	21,20
T	27,86
C	22,54
G	28,40



Resim 4.1. *ITS1-ITS2* gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.1.2. *GA3ox1* Bölgesi Sonuçları

Çalışma için seçilen *GA3ox1* gen bölgesine ait sekans bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra daha verimli veriler elde etmek amacı ile programın complete deletion özelliği kullanılarak hatalı, eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır. Çalışmada kullanılan *GA3ox1* gen bölgesine ait çalışılan *Trigonella* taksonlarının 1.606 nükleotidlik DNA sekans bilgisi hizalandırılmıştır. Seçilen bu gen bölgesine ait, sekans bilgisi kullanılan, 19 *Trigonella* taksonu incelenmiş, hizalandırılmış ve çalışmaya dâhil edilen türler arasında 125 varyasyon içeren bölge belirlenerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.7.).

Türler arası varyasyon içeren bölgeleri belirlenen 19 *Trigonella* taksonun Parsim info sekansları MEGAX proqramında hesaplanarak 78 Parsim info sekansı bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışılan gen bölgesine ait sekans bilgilerinde bir bazın diğer bir baza değişimleri hesaplanmış, baz değişimlerinin %61,36'sının transisyonel, %38,62'sinin transversiyonel baz değişimleri olduğu tespit edilerek çizelge haline getirilmiştir. Çizelgede koyu olarak yazılan değerler transisyonel değişimleri, italik olarak yazılan değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir. (Çizelge 4.8.). Bunlara ek olarak hizalandırılan sekans bilgilerindeki pürin bazları ve pirimidin bazları için transisyon/transversiyon değişimleri hesaplanmış, pürinler için 2,828, pirimidinler için 3,508 ve genel transisyon/transversiyon baz değişimleri ise 1,576 olarak hesap edilerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.9.).

Çalışmada kullanılan 19 *Trigonella* taksonuna ait sekans bilgileri hizalandırılarak nükleotid frekansları hesaplanmıştır (Çizelge 4.10.). *GA3ox1* gen bölgesine ait sekans bilgileri kullanılarak 19 *Trigonella* taksonu arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, *GA3ox1* gen bölgesinin bu cins için ayırım yeteneğinin ortaya çıkarılması adına MP dedndrogramı oluşturulmuş, türlerin seksiyon bilgileri eklenmiştir (Resim 4.2.).

Çizelge 4.6. *GA3ox1* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon olan bölge sayısı	Parsim Info	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyonel değişimler (%)	Transisyonel/Transversiyonel Değişim Oranları	Nükleotid Frekansları (%)
							Pürin (k ₁) Pirimidin (k ₂) Genel (R)	A+T/U G+C
<i>GA3ox1</i>	19	1606	125	78	61,36	38,62	2,828 3,508 1,576	55,17 44,82

Sekans Bilgisi

39

Çizelge 4.7. Devam

Türler	Sekans Bilgisi																											
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	2	2	3	3	4	5	5	6	7	7	8	8	8	8	0	0	0	2	2	2	2	2	3	3		
	4	5	6	9	4	5	8	5	6	3	1	4	0	1	5	9	3	4	5	4	5	8	9	1	2			
<i>T. emodi</i>	A	C	C	G	A	A	C	G	G	C	T	C	T	A	A	A	C	C	T	A	T	A	C	A	G			
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. orthoceras</i>	G	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	T	C	.	T	.	.	T	G	.	.	.	A	.	.			
<i>T. monantha</i>	G	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	T	.	.	T	.	.	T	G	.	.	.	A	.	.			
<i>T. cancellata</i>	G	.	.	.	.	G	T	.	.	T	.	T	.	.	T	.	.	T	G	.	C	G	A	.	.			
<i>T. spruneriana</i>	.	.	A	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	A	T	.			
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	A	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	.	.			
<i>T. kotschyii</i>	.	.	A	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.			
<i>T. gladiata</i>	.	.	.	.	.	.	T	C	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	T	.			
<i>T. foenum-graecum</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	T	.			
<i>T. elliptica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.			
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	A	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	.	.			
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	A	T	.			
<i>T. calliceras</i>	C	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	A	.	A	.	A	.	A			
<i>T. balansae</i>	.	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.			
<i>T. arabica</i>	.	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.			
<i>T. anguina</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.			

Çizelge 4.7. Devam

Türler	Sekans Bilgisi																								
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	3	3	3	3	4	4	5	5	5	7	7	7	8	8	9	0	0	0	0	0	1	2	2	2	3
	3	4	5	6	2	4	0	2	5	3	6	9	4	8	7	1	2	3	6	9	5	2	4	7	3
<i>T. emodi</i>	C	T	T	G	C	T	T	G	C	C	T	G	G	A	C	C	C	G	T	A	A	T	G	G	C
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
<i>T. orthoceras</i>	.	.	A	.	.	A	C	T	.	G	.	.	A	C	.	.	.	.	C	G	.	C	A	A	T
<i>T. monantha</i>	.	C	G	.	.	A	C	T	.	G	.	.	A	C	.	.	.	.	C	G	.	C	A	.	T
<i>T. cancellata</i>	.	C	.	.	.	A	C	.	.	G	.	.	A	C	.	.	.	.	C	G	G	C	A	.	T
<i>T. spruneriana</i>	.	.	.	C	.	A	.	.	.	G	.	.	A	.	.	.	.	A	C	.	.	C	.	.	T
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	C	.	.	C	.	A	T
<i>T. kotschyii</i>	.	.	.	C	.	A	.	.	.	G	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	T	
<i>T. gladiata</i>	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	T	
<i>T.oenum-graecum</i>	.	.	A	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A	.	.	.	G	.	C	.	.	C	.	.	T
<i>T. elliptica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
<i>T. cretica</i>	.	.	.	C	T	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	T	T
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	C	.	.	C	.	A	T
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	T	
<i>T. calliceras</i>	G	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	C	.	A	T
<i>T. balansae</i>	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	C	.	.	C	T	.	.	A	C	G	C	C	T	.	T
<i>T. arabica</i>	.	.	.	.	.	A	C	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.	.	C	.	.	T
<i>T. anguina</i>	.	.	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.	T	T	.	.	A	C	G	.	C	T	.	T

Sekans Bilgisi

T. anguina

Sekans Bilgisi

Çizelge 4.8. *GA3ox1* gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

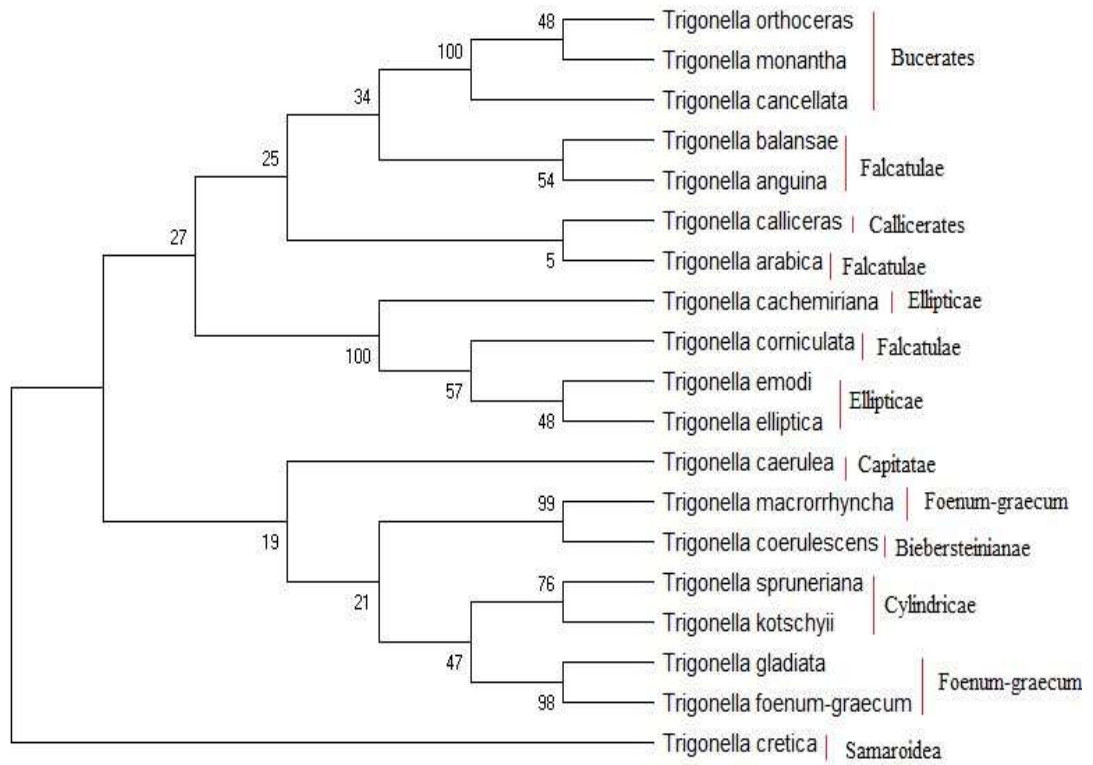
43

Çizelge 4.9. *GA3ox1* gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pirimidinler	3,508
Pürinler	2,828
Genel	1,576

Çizelge 4.10. Her baz için *GA3ox1* gen bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	26,37
T	28,80
C	22,44
G	22,38



Resim 4.2. *GA3ox1* gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.1.3. *MatK* Bölgesi Sonuçları

Çalışmada kullanılan *matK* gen bölgesine ait sekans bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra daha verimli veriler elde etmek amacı ile programın complete deletion özelliği kullanılarak hatalı, eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır. 20 *Trigonella* taksonunun, *matK* gen bölgesine ait 1.534 nükleotidlik sekans bilgisi hizalandırılarak bölgeye ait varyasyon gösteren bölgeler, her takson için hesaplanmış, 71 varyasyonlu bölge belirlenerek tablo haline getirilmiştir (Çizelge 4.12.).

Trigonella taksonlarında toplam 1.534 nükleotid olan *matK* gen bölgesinin Parsim Info sekans bilgisi MEGAX programı kullanılarak hesaplanmış ve bu gen bölgesinin bu taksonlar için 41 Parsim Info sekans bilgisi içerdiği tespit edilmiştir. Ardından *Trigonella* taksonlarının *matK* gen bölgesi için bir bazın diğer baza değişimleri hesaplanmış, hazırlanan çizelgede transisyonel baz değişimleri koyu renk ile transversiyonel baz değişimleri ise italik yazılarak ortaya çıkarılmıştır (Çizelge 4.13.). Hazırlanan çizelgede *matK* gen bölgesi için transversiyonel baz değişimlerinin transisyonel baz değişimlerine oranla daha sık görüldüğü, özellikle timin bazının değişim oranının oldukça yüksek olduğu, bununla birlikte toplam baz değişimlerinin %40'ından fazlasının timin bazının değişimleri olduğu görülmektedir(Çizelge 4.13.).

Trigonella taksonlarının *matK* gen bölgesine ait pürin/pirimidin bazlarının transisyon/transversiyon değişimleri hesaplandığında pirimidin bazların transisyon/transversiyon baz değişimlerinin 1,106, pürin bazlarının transisyon/transversiyon baz değişimlerinin 0,848 olduğu ve genel transisyon/transversiyon baz değişimlerinin ise 0,435 olduğu hesaplanarak çizelge hali getirilmiştir (Çizelge 4.14.). Buna ek olarak *matK* gen bölgesine ait nükleotid frekansları her baz için hesaplanmış, adenin ve timin bazlarının bu gen bölgesi için çoğunlukta olduğu görülmektedir (Çizelge 4.15.).

Çalışmada kullanılan 20 *Trigonella* taksonunun *matK* gen bölgesine ait sekans bilgileri, taksonlar arası ilişkilerin belirlenmesi, taksonların seksiyonel ilişkilerinin ortaya çıkarılması ve bu gen bölgesinin *Trigonella* cinsi için ayırım gücünün belirlenmesi adına MP dendogramı MEGAX programında oluşturularak hazırlanmıştır (Resim 4.3.).

Çizelge 4.11. *MatK* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon olan bölge sayısı	Parsim İnfö	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyonel değişimler (%)	Transisyonel/Transversiyonel Değişim Oranları Pürin Pirimidin Genel (k ₁) (k ₂) (R)			Nükleotid Frekansları (%) A+T/U G+C	
<i>matK</i>	20	1534	71	41	33,16	66,84	0,848	1,106	0,435	69,36	30,64

Çizelge 4.12. Çalışılan türler ve *MatK* bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler

Türler	Sekans Bilgisi																			
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7
	2	4	4	5	6	6	7	7	8	9	1	3	4	4	6	8	9	9	0	1
	6	5	7	7	3	5	5	9	9	8	9	1	5	7	6	6	1	4	1	5
<i>T. orthoceras</i>	T	T	G	A	A	T	A	T	C	G	T	A	A	A	T	C	T	T	A	C
<i>T. cancellata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. monantha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. emodi</i>	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. spruneriana</i>	C	.	.	.	T	.	.	G	.	.	G	.	T	.	A	.	.	A	.	.
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. kotschyii</i>	C	.	.	.	T	.	T	G	.	.	G	.	T	.	A	.	.	A	.	.
<i>T. gladiata</i>	C	.	.	.	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.
<i>T. Foenum-graecum 1</i>	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	C	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. Foenum-graecum 2</i>	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	T	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	T	G	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	C	C	A	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	.	T	C
<i>T. balansae</i>	.	C	.	C	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	.	C	T
<i>T. arabica</i>	.	C	.	C	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	A	.	.	C	T
<i>T. elliptica</i>	.	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.	.	.	.
<i>T. anguina</i>	.	C	.	C	T	.	.	.	.	A	G	.	.	.	A	.	G	.	C	T

Çizelge 4.12. Devam

Türler	Sekans Bilgisi																																
																										1	1	1	1	1	1	1	
	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9	9	0	0	1	2	4	5	7	7	8	8	0	1	3	5	9	2	3	3	4	5	5	5									
	0	6	3	4	0	3	2	9	8	9	0	3	7	9	8	7	1	9	1	6	3	5	7	8									
<i>T. orthoceras</i>	G	T	A	C	C	T	A	T	T	C	G	T	T	T	T	G	A	A	C	A	C	C	G	C									
<i>T. cancellata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. monantha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. emodi</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	T	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	A	.	T	.								
<i>T. cachemiriana</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	T	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	A	.	T	.								
<i>T. spruneriana</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	C	C	.	G	.	.	.	.	.	.	T	.									
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	C	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. kotschyii</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	C	C	.	G	.	.	.	.	.	.	T	.									
<i>T. gladiata</i>	A	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. Foenum-graecum 1</i>	A	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	.	T	.	.								
<i>T. Foenum-graecum 2</i>	A	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	.	T	.	.								
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	C	.	.	T	A									
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	C	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	.	G	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.	.	A	T	.									
<i>T. balansae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	G	.	A	.	C	.	G	.	.	.	.	.	T	.									
<i>T. arabica</i>	.	.	.	.	A	.	.	.	C	C	G	.	.	.	C	.	G	.	.	C	.	.	T	.									
<i>T. elliptica</i>	.	.	.	.	.	C	.	.	C	G	T	.	.	C	.	G	.	.	.	.	A	.	T	.									
<i>T. anguina</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	C	C	G	.	A	.	C	.	G	.	.	.	.	.	T	.									

Çizelge 4.12. Devam

Türler	Sekans Bilgisi																			
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
	5	6	7	8	8	9	9	9	0	1	2	3	4	5	6	6	6	8	9	1
	9	2	0	2	8	4	6	9	3	7	3	2	4	0	2	5	7	6	0	2
<i>T. orthoceras</i>	A	A	C	T	A	C	T	T	A	T	G	A	G	T	A	T	A	C	G	C
<i>T. cancellata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. monantha</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. emodi</i>	C	.	.	G	.	.	G	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. cachemiriana</i>	C	.	.	G	.	.	G	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. spruneriana</i>	.	.	.	G	.	G	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	G	C
<i>T. macrorrhyncha</i>	.	.	.	G	C	.	.	.	.	.	A	C	T	.	T	A	.	.	.	.
<i>T. kotschyii</i>	.	.	.	G	.	G	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. gladiata</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	T	C	G
<i>T. Foenum-graecum 1</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	.	G	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. Foenum-graecum 2</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	.	G	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	A	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	G	C	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	T	A	A
<i>T. calliceras</i>	.	C	.	G	.	.	.	.	G	.	A	C	T	C	.	A	C	.	.	.
<i>T. balansae</i>	.	C	.	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	A
<i>T. arabica</i>	.	C	.	G	.	.	.	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. elliptica</i>	C	.	.	G	.	.	G	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. anguina</i>	.	C	.	G	.	.	G	.	.	.	A	C	T	.	.	A	.	.	.	G

Çizelge 4.13. *MatK* gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

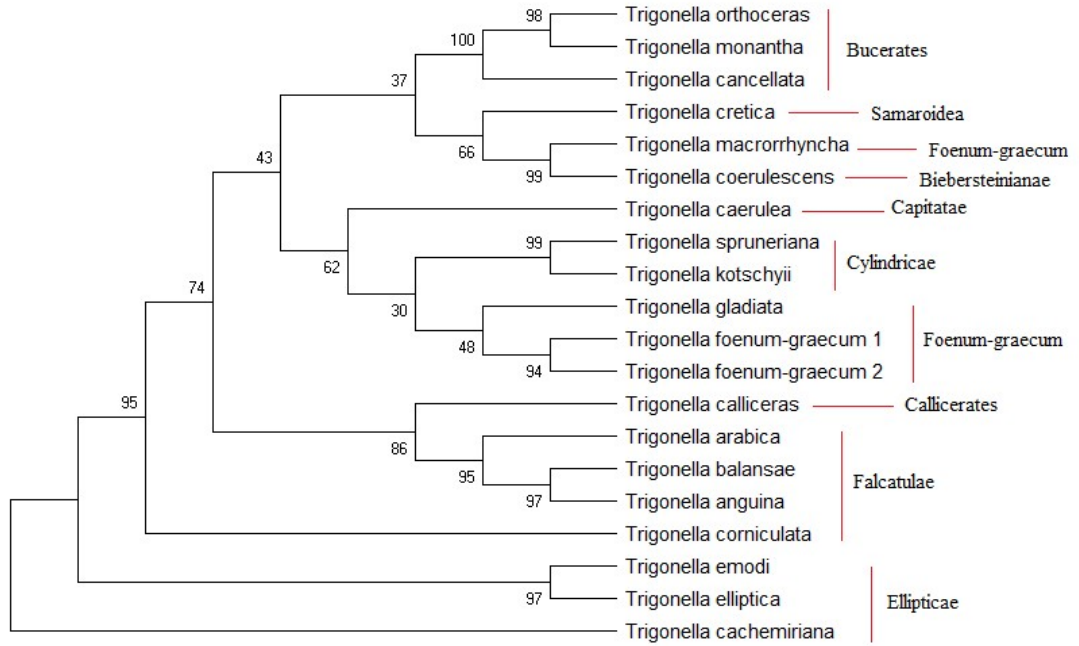
	A	T	C	G
A	-	13,29	5,38	4,12
T	9,89	-	5,95	4,86
C	9,89	14,7	-	4,86
G	8,39	13,29	5,38	-

Çizelge 4.14. *MatK* gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pirimidinler	1,106
Pürinler	0,848
Genel	0,435

Çizelge 4.15. Her bir baz için *MatK* gen bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	29,60
T	39,76
C	16,09
G	14,55



Resim 4.3. *MatK* gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.1.4. *rbcL* Bölgesi Sonuçları

Çalışmada kullanılan *rbcL* gen bölgesine ait dizi bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra daha verimli sonuçlar elde etmek amacı ile MEGAX programının

complete deletion özelliği kullanılarak hatalı, eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır. *Trigonella* taksonlarının *rbcL* gen bölgesine ait varolan 21 taksondan, çalışmaya dâhil edilen 13 taksonuna ait sekans bilgisi hizalandırıldıktan sonra 1.424 nükleotidlik hizalandırılmış DNA uzunluğuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Ardından bu gen bölgesi için varyasyon gösteren bölgeler belirlenerek 27 varyasyonlu bölge içerdiği ortaya çıkarılmıştır (Çizelge 4.17.). Gen bölgesine ait *Trigonella* taksonlarının Parsim Info sekansları MEGAX programı ile hesaplanmış, taksonlarda toplam varolan Parsim Info sekans bilgisinin 4 olarak tespit edilmiştir. *Trigonella* taksonlarının 1424 nükleotidlik hizalandırılmış sekans bilgisinde bir bazın diğer baza değişimleri hesaplanmış, transisyonel baz değişimleri koyu renk ile transversiyonel baz değişimleri italik olarak belirtilerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.18). *rbcL* gen bölgesi için *Trigonella* taksonlarında transisyonel baz değişimlerinin transversiyonel baz değişimlerine oranla daha sık görüldüğü, bununla birlikte sitozin ve timin bazı arasındaki değişimlerin genel baz değişim oranının %70'nden fazlasını oluşturduğu görülmektedir. Çizelgede koyu olarak yazılan değerler transisyonel değişimleri, italik olarak yazılan değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir (Çizelge 4.18).

Trigonella taksonlarının *rbcL* gen bölgesine ait pürin/pirimidin bazlarının transisyon/transversiyon değişimleri incelendiğinde pürin bazlarındaki transisyon/transversiyon değişimlerinin 0,118, pirimidin bazlarındaki transisyon/transversiyon değişimlerinin 9,501 olduğu görülmektedir. Bunlara ek olarak genel transisyon/transversiyon baz değişimlerinin ise 2,357 olduğu hesaplanmıştır (Çizelge 4.19.). *rbcL* gen bölgesine ait sekans bilgisinde var olan bazların nükleotid frekansları hesaplanmış, adenin bazının ve timin bazının *Trigonella* taksonları için *rbcL* gen bölgesinde yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır (Çizelge 4.20.). Çalışmaya dâhil edilen 13 *Trigonella* taksonunun filogenetik ilişkilerinin analiz edilmesi, *rbcL* gen bölgesinin bu cins için ayırım gücünün ortaya koyulması amacıyla, MEGAX programı kullanılarak MP dendrogramı oluşturulmuştur (Resim 4.4.).

Çizelge 4.16. *rbcL* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon olan bölge sayısı	Parsim Info	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyonel değişimler (%)	Transisyonel/Transversiyonel Değişim Oranları			Nükleotid Frekansları (%)	
							Pürin (k ₁)	Pirimidin (k ₂)	Genel (R)	A+T/U	G+C
<i>rbcL</i>	13	1424	27	4	70,97	29,02	0,118	9,501	2,357	57,85	42,16

Çizelge 4.17.Çalışılan türler ve *rbcL* gen bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler

Türler	Sekans Bilgisi																													
	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5
	8	9	0	1	3	4	6	8	8	9	1	5	8	8	9	0	1	3	4	5	7	7	9	0	0	0	2			
	5	1	3	8	9	8	6	1	9	0	1	3	6	9	5	7	9	2	9	2	0	3	7	0	3	4	7			
<i>T. stellata 1</i>	C	G	T	A	T	C	T	T	T	T	C	C	C	G	T	A	C	G	T	T	T	G	A	T	C	C	T			
<i>T. hamosa</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. anguina 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. anguina 2</i>	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 3</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
<i>T. caerulea</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. corniculata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. stellata 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 4</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 5</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
<i>T. ornithopodioides</i>	T	T	C	G	C	A	C	A	A	C	T	T	T	T	.	G	T	A	.	G	G	A	T	C	T	.	A			
<i>T. foenum-graecum 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.

Çizelge 4.18. *rbcL* gen bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

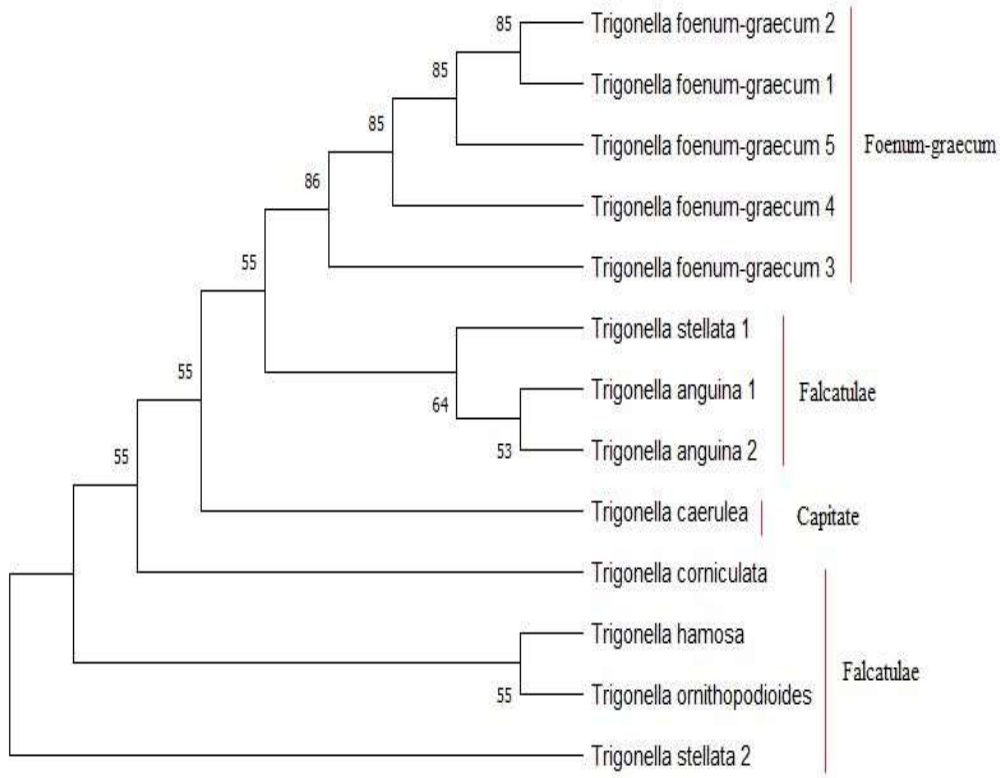
	A	T	C	G
A	-	4,53	2,85	0,39
T	3,86	-	27,04	3,27
C	3,86	43,08	-	3,27
G	0,46	4,53	2,85	-

Çizelge 4.19. Pürin ve pirimidinler için *rbcL* gen bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pirimidinler	9,501
Pürinler	0,118
Genel	2,357

Çizelge 4.20. Her baz için *rbcL* gen bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	26,61
T	31,24
C	19,61
G	22,55



Resim 4.4. *rbcL* gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.1.5. *trnL-trnF* Bölgesi Sonuçları

Çalışmada kullanılan *trnL-trnF* bölgesine ait 24 *Trigonella* taksonunun dizi bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra daha verimli sonuçlar elde etmek amacı ile MEGAX programının complete deletion özelliği kullanılarak hatalı, eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır. *Trigonella* taksonlarının *trnL-*

trnF bölgesine ait 773 nükleotidlik hizalandırılmış DNA sekans bilgisinin bulunduğu, bu sekans bilgisi içerisinde varyasyon gösteren bölgeler belirlenerek 37 adet varyasyonlu bölge olduğu tespit edilerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.22.).

Hizalandırılmış DNA sekans bilgisindeki Parsim İnfö sekans bilgisi MEGAX programında hesaplanarak 40 olduğu belirlenmiştir. Çalışmada tercih edilen diğer bölgelerde olduğu gibi *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgisindeki bir bazın diğer baza değişimleri hesaplanmış ve transisyonel baz değişimleri koyu renk ile transversiyonel baz değişimleri italik olarak belirtilerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.23.).

Hesaplanan baz değişimlerinin %54,85'ini transversiyonel değişimleri olduğu, %45,16'lık kısmın ise transisyonel baz değişimleri olduğu görülmektedir. Çizelgede koyu olarak yazılan değerler transisyonel değişimleri, italik olarak yazılan değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir (Çizelge 4.23.). Bunlara ek olarak pirimidinler ve pürinler için ayrı ayrı transisyonel/transversiyonel baz değişimleri hesaplanmış, pirimidin bazları için transisyonel/transversiyonel baz değişimleri 3,889, pürin bazları için 1,142 ve genel transisyonel/transversiyonel baz değişimleri 1,103 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.24.).

Çalışmaya dahil edilen 24 *Trigonella* taksonuna ait nükleotid frekansları hesaplandığında, sekans bilgisinin büyük çoğunluğunu adenin ve timin bazlarından oluştuğu görülmektedir (Çizelge 4.25.).

Trigonella taksonlarının *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgisi filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılması ve çalışılan bölgenin bu cins için ayırım gücünün belirlenmesi adına MEGAX programı kullanılarak Maximum Parsimony (MP) dendrogramı oluşturulmuştur, taksonların sekans bilgileri eklenmiştir (Resim 4.5.).

Çizelge 4.21. *trnL-trnF* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon olan bölge sayısı	Parsim İnfö	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyone l değişimler (%)	Transisyonel/ Transversiyonel Değişim Oranları	Nükleotid Frekansları (%)	Pürin (k ₁)	Pirimidin (k ₂)	Genel (R)	A+T/U	G+C
<i>trnL-trnF</i>	24	773	37	40	54,85	45,16	1,142	3,889	1,103	64,15	35,85		

Çizelge 4.22. Çalışılan türler ve *trnL-trnF* bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler

Türler	Sekans Bilgisi																											
	1 1 1 1 1 2 2 2 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5																											
	5	6	8	9	7	8	9	9	9	1	2	2	1	0	0	0	2	2	2	3	3	4	5	5				
	2	3	5	2	2	3	1	3	9	5	0	4	5	2	4	5	3	5	9	2	5	1	1	2				
<i>T. foenum-graecum 1</i>	A	A	T	C	A	A	A	C	C	A	A	G	T	A	G	T	A	C	A	T	C	A	T	T				
<i>T. caerulea 1</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coelestria</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	G	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. suavisima</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	T	.	T	C	.	.	.	.	.	.
<i>T. strangulata</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. stellata</i>	.	.	.	A	.	.	T	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. spinosa</i>	.	.	.	A	G	.	.	T	T	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. spicata</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	C	C	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. schumbergeri</i>	.	.	A	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	G	T	C	C	.	.	.	T	.	G	A				
<i>T. mesopotamica</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. maritima</i>	C	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. kotschyii</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. grandiflora</i>	G	C	.	A	.	G	G	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. gladiata</i>	.	.	.	A	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. filipes</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. cylindracea</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	G	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. caerulea 2</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. balansae</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. arabica</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. anguina</i>	.	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.

Çizelge 4.22. Devam

Türler

Sekans Bilgisi

	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	7
	5	5	6	6	4	6	6	6	7	8	8	8	1
	7	8	4	5	3	2	4	6	3	0	3	9	2
<i>T.foenum-graecum 1</i>	C	C	C	C	G	T	A	G	C	T	A	G	G
<i>T. caerulea 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coelesyriaca</i>	G	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. suavissima</i>	.	T	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.
<i>T. strangulata</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
<i>T. stellata</i>	.	T	.	T	.	.	.	A	.	A	.	.	.
<i>T. spinosa</i>	.	T	.	T	.	.	G	.	.	A	.	.	.
<i>T. spicata</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. schlumbergeri</i>	.	T	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	A
<i>T. mesopotamica</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. maritima</i>	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.
<i>T. kotschyii</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. grandiflora</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
<i>T. gladiata</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. foenum-graecum 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. filipes</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. cylindracea</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.
<i>T. cretica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. coerulescens</i>	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. calliceras</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. caerulea 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. balansae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>T. arabica</i>	.	T	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.
<i>T. anguina</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Çizelge 4.23. *trnL-trnF* bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

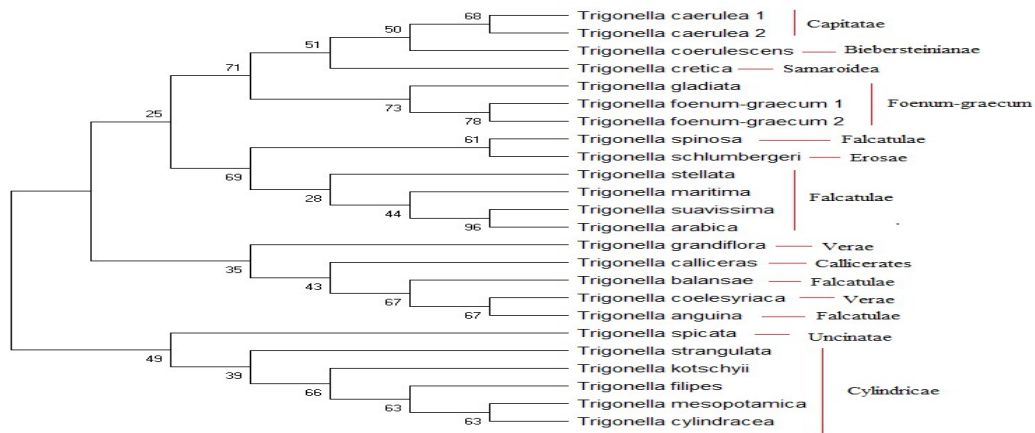
	A	T	C	G
A	-	6,45	4,13	4,52
T	8,04	-	16,08	3,96
C	8,04	25,07	-	3,96
G	9,18	6,45	4,13	-

Çizelge 4.24. *trnL-trnF* bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pirimidinler	3,889
Pürinler	1,142
Genel	1,103

Çizelge 4.25. Her baz için *trnL-trnF* bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	35,60
T	28,55
C	18,31
G	17,54



Resim 4.5. *trnL-trnF* gen bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.1.6. *PsbA-trnH* Bölgesi Sonuçları

Çalışmada seçilen *psbA-trnH* bölgesine ait sekans bilgileri, MEGAX programına yüklendikten sonra, daha verimli veriler elde etmek amacı ile programın complete deletion özelliği kullanılarak, dizi bilgisi içerisinde yer alan hatalı/eksik ve boşluk içeren kısımlar silinmiş ardından hizalandırılmıştır.

Trigonella cinsine ait bireylerin *psbA-trnH* bölgesine ait, NCBI veri tabanında sekans bilgisi bulunan 29 taksondan çalışmaya dâhil edilen 10 taksonun 400 nükleotidlik hizalanmış DNA sekans bilgisinin bulunduğu, bu sekans bilgisi içerisinde 22 adet varyasyonlu bölgenin yer aldığı tespit edilerek çizelge haline getirilmiştir (Çizelge 4.27.). Seçilen *psbA-trnH* gen intron bölgesine ait hizalandırılmış 400 nükleotidlik DNA sekans bilgisi içerisinde yer alan Parsim İfo sekans bilgisi MEGAX programında hesaplanmış, 21 Parsim İfo sekans bilgisinin bulunduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada yer alan diğer gen/gen arası bölgelerde olduğu gibi *psbA-trnH* gen intron bölgesi içinde bir bazın diğer bir baza değişimleri hesaplanmış, transisyonel baz değişimleri koyu renk ile transversiyonel baz değişimleri italik olarak belirtilmiştir (Çizelge 4.28.). Bu bölgeden hesaplanan baz değişimlerinin %73,08'ini transversiyonel baz değişimlerinden, % 26,93'lük kısmını ise transisyonel baz değişimlerinden kaynaklanmaktadır (Çizelge 4.28.). Bunlara ilaveten pirimidin bazları ve pürin bazları için ayrı ayrı transisyonel/transversiyonel baz değişimleri hesaplanmış, pimidin bazları için 0,776, pürin bazları için 0,704 olduğu tespit edilmiştir. Her iki baz grubu için yakın değerler hesaplanırken, genel transisyonel/transversiyonel baz değişimleri 0,307 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.29.).

Çalışmaya dahil edilen 10 *Trigonella* taksonun sekans bilgisindeki nükleotid frekansları hesaplanmış, adenin ve timin bazının yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.30.). *psbA-trnH* gen intron bölgesine ait sekans bilgileri kullanılarak 10 *Trigonella* taksonu arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, *psbA-trnH* gen intron bölgesinin bu cins için ayırım yeteneğinin ortaya çıkarılması adına MP dedndrogramı oluşturulmuş, türlerin seksiyon bilgileri eklenmiştir (Resim 4.6.).

Çizelge 4.26. *psbA-trnH* sekansları temelinde incelenen taksonlara ait bilgiler

DNA Bölgesi	Takson Sayısı	Hizalandırılmış uzunluk (bp)	Varyasyon olan bölge sayısı	Parsim Info	Transisyonel değişimler (%)	Transversiyonel değişimler (%)	Transisyonel/Transversiyonel Değişim Oranları	Nükleotid Frekansları (%)
							Pürin (k ₁) Pirimidin (k ₂) Genel (R)	A+T/U G+C
<i>psbA-trnH</i>	10	400	22	21	26,93	73,08	0,704 0,776 0,307	70,87 29,13

Çizelge 4.27. Çalışılan türler ve *psbA-trnH* bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler

Türler

Sekans Bilgisi

	1 1 1 1 1 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3 3
	5 8 8 8 9 0 3 4 5 6 1 5 9 0 0 1 1 1 2 2 3
	3 0 1 9 3 0 8 8 7 1 7 2 0 2 5 6 1 4 5 3 4 9
<i>T. emodi</i> var. <i>fimbriata</i>	T G C G C G T T C C G A T G T C G A T G A T
<i>T. emodi</i>	
<i>T. cachemiriana</i>	 A A
<i>T. orthoceras</i>	G . G A G . A C T A T . A T A G A C . T . A
<i>T. cancellata</i>	G . G A G . A C T A T . A T A G A C . T . A
<i>T. monantha</i>	G . G A G . A C T A T . A T A G A C . T . A
<i>T. gladiata</i>	G T G . G A . C G T T . A
<i>T. Foenum-graecum 1</i>	G T G . G C . . . A A . G T T C A
<i>T. Foenum-graecum 2</i>	G T G . G C . . . A A . G T T C A
<i>T. Foenum-graecum 3</i>	G T G . G C . . . A A . G T T . A

Çizelge 4.28. *PsbA-trnH* gen intronu bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (Koyu değerler transisyonel baz değişimlerini, italik değerler transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

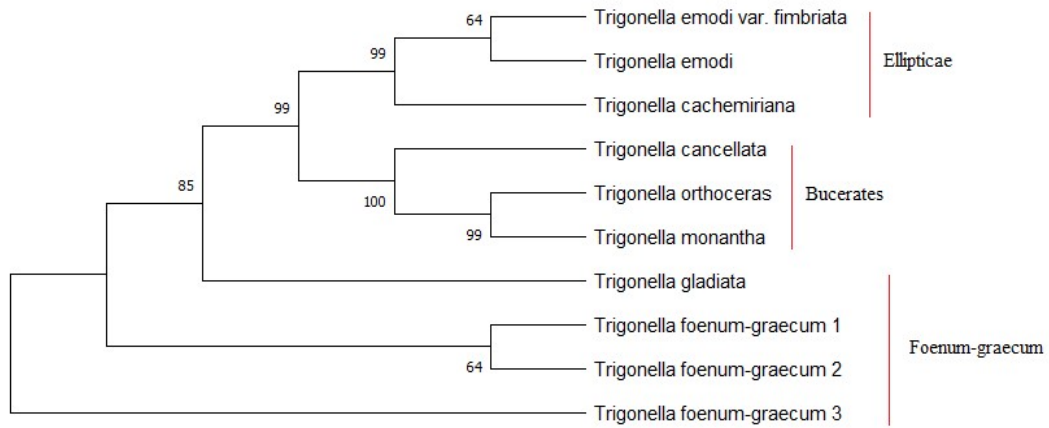
	A	T	C	G
A	-	12,5	4,07	4,63
T	13,4	-	3,16	6,57
C	13,4	9,7	-	6,57
G	9,44	12,5	4,07	-

Çizelge 4.29.Pürin ve pirimidinler için *psbA-trnH* bölgesine ait transisyon/transversiyon oranları

Transisyon/Transversiyon Oranları	
Pürinler	0,704
Pirimidinler	0,776
Genel	0,307

Çizelge 4.30.Her bir baz için *psbA-trnH* bölgesine ait nükleotid frekansları

Nükleotid	Frekans (%)
A	36,67
T	34,20
C	11,14
G	17,99



Resim 4.6.*PsbA-trnH* bölgesine ait Maximum Parsimony dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

4.2. TARTIŞMA

ITS1-ITS2 bölgesine ait 28 *Trigonella* taksonunun, taksonomik statülerinin değerlendirilmesi ve seçilen bölgenin bu türün bireyleri arasındaki ayrım gücünün ortaya çıkarılması için oluşturulan MP dendrogramı incelendiğinde, taksonların genel anlamda seksiyonel olarak ayrıldıkları görülmektedir. 510 hizalandırılmış nükleotid uzunluğuna sahip bu bölgenin 117 varyasyonlu bölge içermesi taksonların seksiyonel baz da

gruplanması için yeterli bilgiye sahip bir bölge olduğunu göstermekte, bu doğrultuda gruplanan ilk seksiyonun ise *Falcatulae* içinde yer alan taksonlardan oluştuğu gözlenmektedir.

Çalışmaya dâhil edilen türler arasında *Samaroidea* seksiyonun da yer alan tek tür *T. cretica*, MP dendrogramında *T. Foenum-graecum* ve *T. gladiata* türleri ile yakın sınıflandığı görülmektedir. İki ayrı seksiyona ait bireylerin (*Samaroidea* ve *Foenum-graecum*), oluşturulan MP dendrogramında yakın sınıflanması Steele ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışmanın sonucunu destekler niteliktedir. Buna ek olarak *Foenum-graecum* seksiyonuna yakın sınıflanmış bir diğer tür olan *T. coerulescens*'in ait olduğu seksiyon olan *Capitatae*'de 2010 yılında gerçekleştirilmiş bir diğer çalışma olan Turini ve arkadaşlarının sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Bu çalışmada *Uncinatae* seksiyonun da yer alan tek tür olan *T. spicata*, oluşturulan MP dendrogramında *Cylindricae* seksiyonuna ait bireyler olan *T. spruneriana* ve *T. kotschyii* ile yakın sınıflandığı görülmektedir. Bu sonuç Dangi ve arkadaşlarının 2016 yılında gerçekleştirdiği çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Filogenetik ilişkilerin değerlendirilmesi adına oluşturulan MP dendrogramı kapsamlı bir şekilde incelendiğinde, birlikte bulunduğu taksonlara en dıştan bağlanan *Lunatae* ve *Bucerates* seksiyonuna ait bireylerin birbirleriyle yakın sınıflanırken diğer seksiyonlara ait türlere uzak gruplandığı görülmektedir. Bu ayrı gruplanmada *Lunatae* seksiyonuna ait olan *T. brachycarpa* türünün *Bucerates* seksiyonuna ait bireylerle yakınlık göstermesi, Pınar ve arkadaşlarının (2014) gerçekleştirdikleri çalışmanın sonuçlarıyla örtüşmekte, *Trigonella* taksonlarının *ITS1-ITS2* bölgesine ait sekans bilgileriyle oluşturulan MP dendrogramının doğruluğu desteklenmektedir.

Nükleer genoma ait *GA3ox1* gen bölgesi için 19 *Trigonella* taksonunun filogenetik ilişkilerinin değerlendirilmesi ve çalışılan bu gen bölgesinin *Trigonella* cinsine ait bireylerdeki ayrım gücünün ortaya çıkarılması adına oluşturulan MP dendrogramı incelendiğinde, taksonların genel itibarıyla seksiyonel bazda ayrımlarının gerçekleştiği, 1.606 nükleotidlik hizalandırılmış DNA sekans bilgisi içerisinde bulunan 125 varyasyonlu bölgenin, çalışılan tasonların ayrımı için yeterli sonuçlar verdiği görülmektedir. Oluşturulan MP dendrogramında seksiyonel bazda taksonomik statüler

değerlendirildiğinde ise, *Samaroidea* seksiyonunun, oluşturulan *GA3ox1* gen bölgesine ait dendrogramın en dış grubunu oluşturduğu görülmektedir.

Çalışmaya dâhil edilen *Falcatulae* seksiyonuna ait olan taksonların, *Ellipticae* ve *Bucerates* seksiyonuna ait olan türlerle yakın sınıflandığı görülmektedir. Buna ek olarak *Falcatulae* seksiyonuna ait *T.arabica* türü bu seksiyonuna dâhil olan türlerle ve *Callicerates* seksiyonu ile yakın sınıflanması Steele ve arkadaşlarının (2010) gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunu destekler niteliktedir.

Kloroplast genomuna ait *matK* gen bölgesi sekans bilgileri, 20 *Trigonella* taksonu için değerlendirilmiş, oluşturulan MP dendrogramı analiz edilerek filogenetik ilişkiler ve taksonomik statüler ortaya konmuştur. Elde edilen MP dendrogramı incelendiğinde genel anlamda taksonların seksiyonel olarak gruplandığı gözlenmiştir.

Çalışmada *Samaroidea* seksiyonuna ait tek tür olan *T.cretica*, *matK* bölgesinden elde edilen MP dendrogramında, *Foenum-graecum* ve *Biebersteinianae* seksiyonlarına yakın sınıflandığı, buna karşın *Bucerates* seksiyonundan ayrı gruplandığı tespit edilmiş, benzer sonuç Bena ve arkadaşları (2001) tarafından gerçekleştirilen çalışmada gözlenmiştir.

MatK bölgesine ait sekans bilgisinden oluşturulan MP dendrogramında, iki farklı seksiyonun bireyi olan *T. macrorrhyncha* (*Foenum-graecum*) türü ve *T. coerulescens* (*Biebersteinianae*) türünün yakın sınıflandığı gözlenmiştir. Benzer sonuç 2016 yılında Dangi ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda gözlenmiştir. Bununla birlikte *Capitatae* seksiyonunun, *Cylindricae* ve *Foenum-graecum* seksiyonlarına dışarıdan bağlanan bir grup olmasına karşın diğer seksiyonlara göre bu iki seksiyona daha yakın sınıflanması, Dangi ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmanın sonucuyla örtüşmektedir.

Trigonella cinsi içerisinde yer alan ve seksiyonel ayırmda farklı gruplara dâhil edilen *T.arabica* türü, çalışmamızın sonucunda *matK* bölgesine ait sekans bilgisi ile oluşturulan MP dendrogramında *Falcatulae* seksiyonuna yakın sınıflanarak, Steele ve arkadaşları (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonucuna benzer sonuçlar vermiştir. Bu nedenle de türün seksiyonel ayırmda *Falcatulae* seksiyonuna dâhil olduğu söylenebilir.

Callicerates seksiyonun ait çalışmaya dâhil edilen tek tür olan *T.calliceras*, *Falcatulae* seksiyonuna yakın sınıflanırken, *Foenum-graecum*, *Cylindricae*, *Capitatae*, *Biebersteinianae*, *Samaroidea* ve *Bucerates* seksiyonlarından uzak sınıflandığı gözlenmiştir.

Bir gen bölgesi olan *matK* ile oluşturulan dendrogramda, çalışmaya dâhil edilen seksiyonlardan *Ellipticae* seksiyonunun, diğer seksiyonlardan en uzak sınıflanan seksiyonu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında kloroplast genomunda yer alan ve bir gen bölgesi olan *rbcL* gen bölgesine ait sekans bilgileri kullanılan 13 *Trigonella* taksonunun, taksonomik statülerinin değerlendirilmesi ve bu gen bölgesinin ayırım yeteneğinin incelenmesi adına oluşturulan MP dendogramı değerlendirildiğinde, çalışmaya dâhil edilen türlerin seksiyonel anlamda gruplandığı gözlenmiştir.

Seçilen 13 *Trigonella* taksonu içerisinde aynı türe ait olan fakat farklı çalışmalardan tercih edilen 5 *T. foenum-graecum* türü birbirleriyle yakın sınıflanırken, diğer seksiyonlara ait taksonlardan uzak sınıflandığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç doğrultusunda NCBI (1988) veri tabanından alınan türe ait sekans bilgilerinin doğruluğunu desteklemektedir.

RbcL gen bölgesine ait sekans bilgisi ile çalışmaya dâhil edilen türler arasında *Capitatae* seksiyonuna ait tek tür olan *T. caerulea* 'nın, oluşturulan MP dendrogramında, *Falcatulae* ve *Foenum-graecum* seksiyonlarına dışardan gruplandığı gözlenmiştir. Bu sonuç Dangi ve arkadaşları (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Bitki filogenetik analizlerinde sıklıkla tercih edilen ve çalışmamıza dâhil edilen *trnL-trnF* gen arası bölgeye ait sekans bilgileri ile oluşturulan MP dendogramı değerlendirildiğinde, 773 hizalandırılmış nükleotid içerisinde 37 varyasyonlu bölgenin bulunması, türleri seksiyonel bazda birbirlerinden ayrıldığı gibi, aynı seksiyona ait taksonların yakın olarak gruplandığı gözlenmiştir.

TrnL-trnF bölgesine ait sekans bilgisi ile oluşturulan MP dendrogramında, *Capitatae*, *Biebersteinianae*, *Samaroidea* ve *Foenum-graecum* seksiyonlarına ait türlerin, birbirleriyle yakın dallanma yaparak diğer türlerden ayrı gruplanması, bu dört seksiyona

ait bireylerin yakın taksonomik statüye sahip olduklarını göstermektedir. Bu sonuç Steele ve arkadaşlarının (2010) *Trigonella* cinsi ile gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunu desteklemektedir.

Bu çalışmaya dâhil edilen ve *Erosae* seksiyonuna ait tek tür olan *T. schlumbergeri*, *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgisi ile oluşturulan MP dendrogramında *Falcatulae* seksiyonuna ait türler ile yakın sınıflanarak, Dangi ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışma ile benzer sonuçlar ortaya koymaktadır. Buna ek olarak çalışmaya dâhil edilen *Trigonella* taksonlarından *Verae* seksiyonuna ait *T. grandiflora* ve *T. coelestria* türlerinin, *Falcatulae* ve *Callicerates* seksiyonlarıyla yakın sınıflandığı, oluşturulan MP dendrogramında tespit edilmiştir. Benzer sonuç Dangi ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışmada gözlenmiştir.

Cylindricae seksiyonuna ait 5 *Trigonella* türünün, *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgisi ile oluşturulan MP dendrogramında, çalışmaya dâhil edilen diğer seksiyonlara uzak sınıflanırken, *Uncinatae* seksiyonuna ait *T. spicata* türü ile yakın sınıflandığı tespit edilmiştir.

Trigonella taksonlarının *psbA-trnH* intron bölgesine ait sekans bilgileriyle oluşturulan MP dendrogramı değerlendirildiğinde, çalışmaya dâhil edilen 10 *Trigonella* taksonunun seksiyonel olarak sınıflandıkları gözlenmiştir.

Çalışmanın sonucunda *psbA-trnH* intron bölgesine ait sekans bilgileriyle oluşturulan MP dendrogramı seksiyonel bazda incelendiğinde, *Ellipticae* seksiyonuna ait taksonların *Bucrates* seksiyonu ile yakın sınıflanırken, *Foenum-graecum* seksiyonuna ait taksonlardan uzak sınıflandığı tespit edilmiştir. Benzer sonuç Steele ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışma ile desteklenmektedir.

PsbA-trnH intron bölgesine ait sekans bilgisi kullanılan ve farklı çalışma gruplarından seçilen 10 *Trigonella* taksonunun sayısı az olmasına karşın, aynı seksiyon grubunda yer alan bireylerinin yakın, farklı seksiyon grubunda yer alan bireylerinin ise uzak sınıflanması, bu bölgenin seksiyonel bazda sınıflandırma için yeterli ayırım gücüne sahip olduğu söylenebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

rRNA genleri arasında bulunan *ITS1-ITS2* bölgesi için hazırlanan dendrogram incelendiğinde, türlerin önceki çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan seksiyonel ayrımları desteklediği gözlenmiştir. Çalışılan *ITS1-ITS2* gen arası bölgesine ait sekans bilgisi ve sekans uzunluğunun filogenetik ilişkilendirme için anlamlı olduğu, var olan *Trigonella* taksonlarında gözlenen yüksek varyasyon içeren bölgelerin türlerin seksiyonel bazda sınıflandırılması için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda bu sekans bölgesinin *Trigonella* türlerinin akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, var olan taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağlaması ve *Trigonella* türleri içerisinde seksiyonel ayırmda var olan problemlerin giderilmesine katkı sağlaması için yeterli bilgi içerdiği söylenebilir.

GA3ox1 gen bölgesine ait sekans bilgisi ile elde edilen dendrogram incelendiğinde, türlerin seksiyonel bazda ayrımlarının, önceki çalışmaların sonuçları ile büyük oranda benzerlik göstermektedir. *GA3ox1* gen bölgesine ait hizalandırılmış sekans bilgisinin filogenetik analiz için yeterli uzunluğa sahip olduğu ve bir gen bölgesi olmasına rağmen içerdiği varyasyonlu bölge sayısını çokluğu, türlerin birbirinden ayrımı için yeterli bir bölge olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak *Trigonella* cinsine ait taksonların seksiyonel bazda ayrımı için yeterli ayırım gücüne sahip olduğu söylenemez. Sonuç olarak türlerin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilen genler arası bölgelerle birlikte gen bölgelerinde tercih edilmesi, türlerin seksiyonel ayrımı için daha doğru sonuçlar ortaya koyabileceği söylenebilir. *GA3ox1* gen bölgesinin de *Trigonella* türlerinin akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi ve var olan taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağlaması için diğer bölgeler ile kombinasyonlarının denenmesi daha verimli sonuçlar ortaya çıkarabileceği öngörülmektedir.

MatK gen bölgesi için oluşturulan dendrogram incelendiğinde, 20 *Trigonella* taksonunun seksiyonel bazda sınıflandırılmasının, daha önceden çalışılmış ve ortaya konulmuş seksiyonel gupları destekleyici yönde olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucu yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde; hizalandırılmış sekans bilgisinin, türlerin seksiyonel ayrımları için ve bir gen bölgesi olarak içerdiği varyasyonlu bölgelerin

sayısının, *Trigonella* cinsi için filogenetik ilişkilerin belirlenmesi adına yeterli bir bölge olduğunu ortaya koymaktadır. CBOL tarafından önerilen ve bitki filogenetik analizlerinde sıkça tercih edilen *matK* gen bölgesi, *Trigonella* cinsi için yeterli ayırım gücüne sahip bir gen bölgesi olduğu, bu çalışma sonucunda tespit edilmiştir. Sonuç olarak kloroplast genomda yer alan *matK* gen bölgesi, *Trigonella* cinsine ait türler için uygun bir bölge olduğu ve taksonomik statülerin belirlenmesi için yeterli varyasyona sahip bir bölge olduğu söylenebilir.

RbcL gen bölgesine ait sekans bilgisi kullanılarak elde edilen dendrogram incelendiğinde, bölgenin sahip olduğu hizalandırılmış sekans bilgisinin filogenetik analiz için yeterli olduğu gözlenmiştir. Ancak *rbcL* gen bölgesi için oluşturulan dendrogramda seksiyonel ayrımlar her ne kadar önceki çalışmalara benzer sonuçlar versede, çalışmada kullanılan diğer gen bölgelerine oranla daha az varyasyonlu bölge göstermesi, bu bölgenin sonraki çalışmalarda daha fazla tür ile ve diğer barkodlama bölgeleriyle birlikte kullanılması gerektiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak CBOL tarafından önerilen *rbcL* gen bölgesi *Trigonella* türlerinin tür içi ilişkilerinin ortaya çıkarılması için uygun fakat seksiyonel ayırım için diğer barkodlama bölgeleriyle birlikte kullanılması gerektiği ortaya çıkarılmıştır.

TrnL-trnF gen arası bölgeye ait sekans bilgileri ile oluşturulan MP dendrogramı incelendiğinde, kullanılan 24 *Trigonella* taksonunun seksiyonel olarak gruplandığı gözlenmiştir. Oluşturulan dendrogramda taksonların seksiyonel ayrımları önceki çalışmalarla benzer sonuçlar ortaya koymuştur. *TrnL-trnF* bölgesine ait hizalandırılmış nükleotid sekans bilgisinde belirlenen varyasyonlu bölgelerin sayısı, bu cinsin taksonlarının seksiyonel olarak sınıflandırılması için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bitki barkodlama çalışmalarında sıklıkla tercih edilen *trnL-trnF* bölgesine ait sekans bilgisi ile oluşturulan filogenetik ağaçta, aynı seksiyon da bulunan türlerin diğer seksiyonlara ait türlerle iç içe geçmesinden dolayı bu gen arası bölgenin daha fazla tür ve diğer barkodlama bölgeleriyle birlikte kullanılarak daha doğru sonuçlar elde edilebileceği öngörülmektedir.

PsbA-trnH bölgesi için hazırlanan filogenetik ağaç incelendiğinde, çalışmaya dâhil edilen türlerin önceki çalışmalar sonucunda elde edilmiş olan seksiyonel temelli ayrımları destekleyici sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. *PsbA-trnH* gen arası bölgesine

ait hizalandırılmış sekans bilgisinde tespit edilen varyasyonlu bölgelerin sayısı, filogenetik ilişkilendirme için yeterli olduğu ve çalışmaya dâhil edilen tüm *Trigonella* taksonlarının seksiyonel olarak doğru sınıflandığı gözlenmiştir. Sonuç olarak DNA barkodlama çalışmalarında sıklıkla önerilen *psbA-trnH* gen intronu bölgesinin, *Trigonella* cinsine ait türleri sınıflandırmada başarılı sonuçlar verdiği, türlerin birbirleriyle ilişkilerin ortaya çıkarılması için yeterli bilgi içerdiği söylenebilir.

Bu tez kapsamında *Trigonella* cinsine ait farklı türler ile yapılan filogenetik analizlerde tercih edilen *ITS1-ITS2*, *GA3ox1*, *matK*, *rbcL*, *trnL-trnF* ve *psbA-trnH* bölgelerinin, bitki DNA barkodlama çalışmalarına yön vermesi adına ayrı ayrı çalışılarak sonuçları ortaya çıkarılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda CBOL tarafından önerilen her bölgenin, her bitki cinsi için aynı sonuçlar vermediği fakat bazı bölgelerin yeterli sonuçlar vererek standart bir DNA barkod bölgesi olmaya aday olduğu tespit edilmiştir. Bu doğrultuda çalışma kapsamında *Trigonella* cinsi için en iyi sonuçlar veren DNA barkod bölgelerinin *ITS1-ITS2*, *matK* ve *psbA-trnH* olduğu, *GA3ox1*, *rbcL* ve *trnL-trnF* bölgelerinin ise tek başlarına filogenetik ilişkilendirme için yetersiz olduğu ortaya çıkarılmıştır. Çalışılan bölgeler arasında CBOL tarafından önerilen *ITS1-ITS2* ve *matK* bölgelerin hizalandırılmış sekans uzunlukları ve varyasyonlu bölge sayıları filogenetik ilişkilendirme için yeterli olduğu gözlenmiştir. Bu doğrultuda bu iki bölge bitki barkodlama çalışmalarında standart DNA barkod bölgesi olmaya en yakın aday oldukları söylenebilir.

Trigonella cinsi taksonomisi üzerine gerçekleştirilen önceki çalışmalarda, seksiyonel bazda farklı statülerde değerlendirilen *T.arabica* türü, bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen kapsamlı analizler sonucunda *ITS1-ITS2*, *GA3ox1*, *matK*, *trnL-trnF* bölgeleri ile oluşturulan dendrogramlarda *Falcatulae* seksiyonuna ait türlerle yakın sınıflanmıştır. Steele ve arkadaşlarının 2010 yılında gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda *Pectinateae* seksiyonuna dâhil edilen *T.arabica* türü başka bir deyişle *Falcatulae* seksiyonuna daha yakın olduğu görülmüştür.

Çalışmada kullanılan bölgeler içerisinde *Trigonella* türlerini ayırım gücü yüksek olan ve türler arası ilişkilerin ortaya çıkarılması bakımından verimli sonuçlar veren *ITS1-ITS2*, *matK* ve *psbA-trnH* bölgelerinin sonraki çalışmalarda daha fazla türler ile birlikte kullanılarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Ayrıca çalışma kapsamında tercih edilen

bölgelere ait *Trigonella* taksonları için yeterli sekans bilgisi bulunmamakta ve NCBI veri tabanında sekans uzunluğu bakımından taksonlarda ciddi hatalar yer almaktadır. Bu nedenle bitki DNA barkodlama çalışmalarında ulaşılabilir veri bilgilerinin artırılması, var olan veya yeni girilecek olan sekans bilgilerinin kalite kontrollerinin yapılması; bitki gruplarına ait en iyi barkodlama bölgelerinin tespiti ve belirlenen barkodlama bölgelerinin birlikte kullanılması filogenetik ilişkilerin değerlendirilmesine büyük katkılar sağlayacağı bu çalışma kapsamında öngörülmektedir.



KAYNAKLAR

- Akan, H., Ekici, M., Aytaç, Z., Pınar, M.N. (2006). The Taxonomic Revision of *Trigonella* L. In Turkey, The Project of The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK, Project No: TBAG2099 101T142), Ankara: Unpublished data.
- Akan, H., Ekici, M., Aytaç, Z. (2020). The Synopsis of the Genus *Trigonella* L. (fabaceae) in Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 44(6), 670–693.
- Álvarez, I., Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS Sequences and Plant Phylogenetic Inference, *Molecular phylogenetics and evolution*, 29(3), 417-434.
- American Psychological Association (APA). (2014). Collins English Dictionary - Complete & Unabridged 10th Edition. Dictionary, [http://dictionary.reference.com / browse/legume](http://dictionary.reference.com/browse/legume) (Erişim Tarihi: 22.03.2021).
- Amit Roy, S. R. (2014). Molecular Markers in Phylogenetic Studies A Review, *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*, 02(02).
- Aydemir, M., (2015). Phylogenetic Analysis of *Colchicum* L. Species With Chloroplast Genome Specific Markers, Marmara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 207s, İstanbul.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., Donoghue, M. J. (1995). The its Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82(2), 247- 277.
- Bena G. (2001). Molecular Phylogeny Supports the Morphological Based Taxonomic Transfer of the “Medicagoid” *Trigonella* Species to the Genus *Medicago* L. *Plant Systematics and Evolution.*, 229, 217–236.
- Brennan, G. L., Potter, C., de Vere, N., Griffith, G. W., Skjøth, C. A., Osborne, N. J., Wheeler, B. W., McInnes, R. N., Clewlow, Y., Barber, A., Hanlon, H. M., Hegarty, M., Jones, L., Kurganskiy, A., Rowney, F. M., Armitage, C., Adams-Groom, B., Ford, C. R., Petch, G. M., Creer, S. (2019). Temperate Airborne Grass Pollen Defined by Spatio-temporal Shifts in Community Composition, *Nature Ecology & Evolution*, 3(5), 750–754.
- Bennett, M.D., Leitch, I.J. (2003). Plant DNA C Value Database, Release 2.0. *Royal Botanical Gardens*, Kew, West Sussex, U.K.
- Besse, P., Da Silva, D., Grisoni, M. (2020). Plant DNA Barcoding Principles and Limits: A Case Study in the Genus *Vanilla*, Pascale Besse (ed.), *Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, 2222.
- Besse, P. (2021). Nuclear Ribosomal RNA Genes: ITS Regions, *Molecular Plant Taxonomy*, 2222, 119-129.
- Beyzi E., İlbaş A.İ., Gürbüz B. (2010). Çemen (*Trigonella foenum graecum* L.) ve Genel Özellikleri, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 316-322.

- Brockwell, J., Bottomley, P.J., Thges, J.E. (1995). Manipulation of Rhizobia Microflora For Improving Legume Productivity and Soil Fertility: a Critical Assessment, *Plant and Soil*, 174, 143-180.
- CBOL Plant Working Group (2009) A DNA Barcode for Land Plants, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 12794–12797.
- Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., van den Berg, C., Madriñán, S., Petersen, G., Sberg, O., Jorgensen, T., Cameron, K.M., Carine, M., Pedersen, N., Hedderson, T.A.J., Conrad, F., Salazar, G.A., Richardson, J.E., Hollingsworth, M., Barraclough, T.G., Kelly, L., Wilkinson M. (2007). A Proposal For a Standardised Protocol to Barcode All Land Plants, *Taxon*, 56(2), 295-299.
- Chen, J., Wu, G., Shrestha, N., Wu, S., Guo, W., Yin, M., Li, A., Liu, J., Ren, G. (2021). Phylogeny and Species Delimitation of Chinese Medicago (Leguminosae) and Its Relatives Based on Molecular and Morphological Evidence, *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Choulak, S., Marzouk, Z., Chatti, K., Rhouma-Chatti, S., Ouni, R., & Chatti, N. (2019). Genetic Diversity, Phylogeography and Population Gene Flow of Tunisian Pistacia Vera l, *Turkish Journal of Botany*, 43(6), 737–748.
- Claeys, H., De Bodt, S., Inze, D. (2014). Gibberellins and DELLAs: Central Nodes in Growth Regulatory Networks, *Trends in Plant Science*, 19(4).
- Clegg, M. T., Gaut, B. S., Learn, G. H., Morton, B. R. (1994). Rates and Patterns of Chloroplast DNA Evolution, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 6795-6801.
- Colpaert, N., Cavers, S., Bandou, E., Caron, H., Gheysen, G., Lowe, A.J. (2005). Sampling tissue for DNA Analysis of trees: trunk cambium as an alternative to canopy leaves, *Silvae Genetica*, 54, 265–269.
- Çalışkan, N. (2018). Türkiye’de Yetişen *Trigonella* L. Cinsine Ait Bucerates Boiss. ve Foenum-graecum Ser. Seksiyonlarının Bazı Türlerinin Taksonomik İlişkilerini RAPD-PCRYöntemi ile Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 83s, Şanlıurfa.
- Çeter T. (2012). Comparative seed morphology of *Trigonella* L. species (Leguminosae) in Turkey, *African Journal of Agricultural Research*, 7(3).
- Dangi R.S., Lagu M.D., Choudhary L.B., Ranjekar P.K., Gupta V.S. (2004). Assessment of genetic diversity in *Triogonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers, *BMC Plant Biology*, 4(1), 13.
- Dangi, S. R., Stahl, P. D., Pendall, E., Cleary, M. B., Buyer, J. S. (2010). Recovery of soil microbial community structure after fire in a sagebrush-grassland ecosystem, *Land Degradation and Development*, 21(5), 423–432.
- Dangi R., Tamkanhar S., Choudhary R.K., Rao S. (2016). Molecular phylogenetics and systematics of *Trigonella* L. (Fabaceae) based on nuclear ribosomal ITS and chloroplast trnL intron sequences, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63(1), 79- 96.

- Davis P.H. (1970). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, *Edinburgh University Press*, 452–482.
- Davis, P.H., Milli, R.R., Tan, K. (1988). Flora of Turkey and The East Aegean Island (Supplement), *Edinburgh University Press*, 10.
- De Boer, H.J., Ichim, M.C., Newmaster, S. (2015). DNA barcoding and pharmacovigilance of herbal medicines, *Drug Safety*, 38, 611–620.
- Deiner, K., Bik, H.M., Machler, E., Seymour, M., Lacoursiere-Roussel, A., Altermatt, F.; Creer, S., Bista, I., Lodge, M.D., de Vere, N., Pfrender, M.E., Bernatchez, L. (2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities, *Molecular Ecology*, 26, 5872–5895.
- DeSalle, R., Goldstein, P. (2019). Review and interpretation of trends in DNA barcoding, *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 302.
- Doğan G. (2013). *Hypericum L. (Hypericaceae) cinsine ait Drosanthe (Spach) ENDL. seksiyonunun kloroplast genomunun Kodlanmayan ‘trn’ bölgelerine göre karşılaştırmalı filogenetik analizi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 96s, Elazığ.
- Drábková, L. Z. (2014). DNA extraction from herbarium specimens, *Methods in Molecular Biology*, 1115, 69–84.
- Ellison, N. W., Liston, A., Steiner, J. J., Williams, W. M., Taylor, N. L. (2006). Molecular phylogenetics of the clover genus (*Trifolium*-Leguminosae), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(3), 688–705.
- Espiñeira, M., Santaclara, F. J. (2016). The Use of Molecular Biology Techniques in Food Traceability, *In Advances in Food Traceability Techniques and Technologies: Improving Quality Throughout the Food Chain*, 91–118.
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D.M., Hajibabaei, M., Barrett, S. C. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well, *PloS one*, 3(7), e2802.
- Fazekas, A. J., Kesanakurti, P. R., Burgess, K. S., Percy, D. M., Graham, S. W., Barrett, S. C. H., Husband, B. C. (2009). Are plant species inherently harder to discriminate than animal species using DNA barcoding markers?, *Molecular ecology resources*, 9 Suppl s1, 130–139.
- Fazekas, A.J., Kuzmina, M.L., Newmaster, S.G., Hollingsworth, P.M. (2012). DNA Barcoding Methods for Land Plants, W. John Kress and David L. Erickson (eds.), vol. 858, 223-252.
- Galimberti, A., Casiraghi, M., Bruni, I., Guzzetti, L., Cortis, P., Berterame, N.M., Labra, M. (2019). From DNA barcoding to personalized nutrition: The evolution of food traceability, *Current Opinion in Food Science*, 28, 41–48.
- Goel, S., Raina, S. N., Ogihara, Y. (2002). Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA

- in the Phaseolus-Vigna complex, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22(1), 1–19.
- Gören, G. (2011). Türkiye'de Yetişen Sideritis L. (Lamiaceae) Cinsinin Hesiodia ve Burgsdorfia Seksiyonlarının ITS nrDNA ile trnL-F ve ndhF cpDNA Dizileriyle Moleküler Sistematiği Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 81s, Balıkesir.
- Grant, D. M., Brodnicke, O. B., Evankow, A. M., Ferreira, A. O., Fontes, J. T., Hansen, A. K., Jensen, M. R., Kalaycı, T. E., Leeper, A., Patil, S. K., Prati, S., Reunamo, A., Roberts, A. J., Shigdel, R., Tyukosova, V., Bendiksby, M., Blaaid, R., Costa, F. O., Hollingsworth, P. M., Stur, E., Ekrem, T. (2021). The future of DNA barcoding: Reflections from early career researchers, *Diversity*, 13(7).
- Gupta, A., Gupta, R., Lal, B. (2001). Effect of *Trigonella foenum-graecum* seeds on glycaemic control and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus, *Alternative Medicine*, 49.
- Güner A., Aslan S., Ekim T., Vural M., Babaç M.T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), *İstanbul, Turkey: Flora Araştırmaları Derneği ve Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayını*.
- Hajibabaei, M., Singer, G. A., Hebert, P. D., Hickey, D. A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics, *TRENDS in Genetics*, 23(4), 167-172.
- Harper, L. R., Lawson Handley, L., Hahn, C., Boonham, N., Rees, H. C., Gough, K. C., Hänfling, B. (2018). Needle in a haystack? A comparison of eDNA metabarcoding and targeted qPCR for detection of the great crested newt (*Triturus cristatus*), *Ecology and Evolution*, 8(12), 6330–6341.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., Dewaard, J. R. (2003a). Biological identifications through DNA barcodes, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., De Waard, J. R. (2003b). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270, S96-S99.
- Hebert, P. D., Stoeckle, M. Y., Zemlak, T. S., Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes, *Plos biology*, 2(10), e312.
- Heywood V.H. (1979). Flowering Plants of the World, *Oxford University Press*, 335, Oxford.
- Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank, M., Little, D. P. (2009). A DNA barcode for land plants, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794–12797.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode, *PloS one*, 6(5), e19254.

- Hollingsworth, P.M., Li, D.Z., van der Bank, M., Twyford, A.D. (2016). Telling plant species apart with DNA: From barcodes to genomes, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 371.
- Hooft Van Huysduynen, A., Janssens, S., Merckx, V., Vos, R., Valente, L., Zizka, A., Larter, M., Karabayir, B., Maaskant, D., Witmer, Y., Maria Fernández-Palacios, J., de Nascimento, L., Molina Jaén, R., Castells, J. C., Marrero-Rodríguez, Á., del Arco, M., Lens, F. (2020). Multiple origins of insular woodiness on the Canary Islands are consistent with palaeoclimatic aridification, *bioRxiv the preprint server for biology*.
- Huber-Morath A. (1970). *Trigonella* L. In: Davis PH (editor) Flora of Turkey and the East Aegean Islands 3. Edinburgh, UK/Scotland: Edinburgh University Press, 452-482.
- Hürkan, K. (2017). Karasal Bitkilerde DNA Barkodlama: Bazı DNA Barkod Bölgelerinin İncelenmesi, *International Journal of Innovative Approaches in Science Research*, 1(1), 57-67.
- Ivanova, N. v., Kuzmina, M. L., Braukmann, T. W. A., Borisenko, A. v., Zakharov, E. v. (2016). Authentication of herbal supplements using next-generation sequencing. *PLoS one*, 11(5).
- Jones, L., Twyford, A.D., Ford, C.R., Rich, T.C.G., Davies, H., Forrest, L.L., Hart, M.L., McHaffie, H., Brown, M.R., Hollingsworth, P.M., De Vere, N. (2020). Barcode UK: A complete DNA barcoding resource for the flowering plants and conifers of the United Kingdom, *Molecular Ecology Resources*, 21, 2050–2062.
- Kalendar, R., Sabot, F., Rodriguez, F., Karlov, G. I., Natali, L., Alix, K. (2021). Editorial: Mobile Elements and Plant Genome Evolution, Comparative Analyses and Computational Tools. In *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Karataş, M. (2012). Moleküler biyoloji, Karataş, M. Ed., Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Kelch, D. G., Baldwin, B. G. (2003). Phylogeny and ecological radiation of New World thistles (Cirsium, Cardueae- Compositae) based on ITS and ETS rDNA sequence data, *Molecular Ecology*, 12(1), 141–151.
- Khew, G.S.W., Chia, T.F. (2011). Parentage determination of Vanda Miss Joaquim (Orchidaceae) through two chloroplast genes rbcL and matK, *AoB PLANTS*, plr018.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369-8374.
- Kress, W. J., Erickson, D. L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region, *PLoS one*, 2(6), e508.

- Kurban M. (2019) *Saccharomyces cerevisiae* DNA Barkodunun Belirlenmesi ve Veri Tabanının Oluşturulması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Doktora Tezi, 175 s, Ankara.
- Kuzmina, M. L., Braukmann, T. W. A., Fazekas, A. J., Graham, S. W., Dewaard, S. L., Rodrigues, A., Bennett, B. A., Dickinson, T. A., Saarela, J. M., Catling, P. M., Newmaster, S. G., Percy, D. M., Fenneman, E., Lauron-Moreau, A., Ford, B., Gillespie, L., Subramanyam, R., Whitton, J., Jennings, L., Metsger, D., Warne, C., Brown, A., Sears, E., Dewaard, J., Zakharov, E., Hebert, P. D. N. (2017). Using Herbarium-Derived DNAs to Assemble a Large-Scale DNA Barcode Library for the Vascular Plants of Canada, *Applications in Plant Sciences*, 5(12).
- Lahaye, R., Van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T.G. and Savolainen, V. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8), 2923-2928.
- Lewis, K. E., Bates, J., Eisen, J. S. (2005). Regulation of *iro3* expression in the zebrafish spinal cord, *Developmental Dynamics*, 232(1), 140–148.
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome, *Biological Reviews*, 90(1), 157-166.
- Lu, Z., Thompson, C. M., Chua, T., Babajanian, S., Zhang, Y., Gao, Q., Chang, P., Swanson, G. (2019). Single-laboratory validation of a two-Tiered DNA barcoding method for raw botanical identification, *Journal of AOAC International*, 102(5), 1435–1447.
- Mansour, A. (2017). Conserving the biodiversity of Kuwait through DNA barcoding the flora, Doktora Tezi, Edinburg Üniversitesi, 317s, İskoçya.
- Mildenhall, D. C. (2006). Hypericum pollen determines the presence of burglars at the scene of a crime: An example of forensic palynology, *Forensic Science International*, 163(3), 231–235.
- Min, X. J., Hickey, D. A. (2007). Assessing the effect of varying sequence length on DNA barcoding of fungi, *Molecular Ecology Notes*, 7(3), 365-373.
- Mitchum, M. G., Yamaguchi, S., Hanada, A., Kuwahara, A., Yoshioka, Y., Kato, T., Tabata, S., Kamiya, Y., Sun, T. P. (2006). Distinct and overlapping roles of two gibberellin 3-oxidases in Arabidopsis development, *Plant Journal*, 45(5), 804–818.
- Mullis, K. B. (1990). The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction.
- Murray, M. G., Thompson, W. F. (1980). Nucleic Acids Research Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, 8.
- NCBI. (1988). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>, Erişim Tarihi; 01.12.2021
- Newmaster, S. G., Fazekas, A. J., Steeves, R. A. D., Janovec, J. (2008). Testing candidate plant barcode regions in the Myristicaceae, *Molecular Ecology Resources*, 8(3), 480–490.

- Nilsson, R. H., Kristiansson, E., Ryberg, M., Hallenberg, N., Larsson, K.H. (2008). Intraspecific ITS variability in the kingdom fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification, *Evolutionary Bioinformatics Online*, 4, 193–201.
- Phoolcharoen, W., Sukrong, S. (2013). Molecular analysis of *Vitex* species using candidate DNA barcoding and PCR-RFLP of the matK gene for authentication of *Vitex glabrata*, *Natural Product Communications*, 8(1), 1934578X1300800130.
- Pinar, N. M., Akan, H., Ceter, T., Aytac, Z., Ekici, M., Acar, A., Akdogan, S. (2014). Comparative pollen morphology of annual *Trigonella* L. (Fabaceae) in Turkey, *Plant Systematics and Evolution*, 300(4), 689–708.
- Piotrowska, A., Bajguz, A. (2011). Conjugates of abscisic acid, brassinosteroids, ethylene, gibberellins, and jasmonates, *Phytochemistry*, 72, 2097–2112.
- Rakhee S.D., Meena D.L., Lal B.C., Prabhakar K.R., Vidya S.G. (2004). Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers, *BMC Plant Biology*, 4, 1–11.
- Ranjbar, M., Karamian, R., Hajmoradi, Z. (2009). Composition of the essential oil of *Trigonella disperma* from Iran, *Chemistry of Natural Compounds*, 45(1), 116–117.
- Ranjbar, M., Karamian, R., Hajmoradi, Z. (2012). A new species and taxonomic studies in *Trigonella* sect. Ellipticae (Fabaceae) in Iran, *Annales Botanici Fennici*, 49(4), 279–287.
- Ranjbar, M., Zahra, H. (2016). Chromosome numbers and biogeography of the genus *Trigonella* (Fabaceae), *Caryologia*, 69(3), 223–234.
- Rogers, S. O., Bendich, A. J. (1987). Ribosomal RNA genes in plants: variability in copy number and in the intergenic spacer, *Plant Molecular Biology*, 9(5), 509–520.
- Rundel, P.W. (1989). Ecological Success In Relation To Plant Form And Function in The Woody Legumes, In C.H. Stirton and J.L. Zarucchi (eds.), *Advances in legume biology, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Gardens*, 29, 377–398.
- Sancar, P.Y. (2017). Türkiye’de Yetişen *Anthriscus* Pers. (Apiaceae) Türlerinin Genetik Yapısının ve Filogenetik Akrabalık İlişkilerinin Kloroplast Genomunun Kodlanmayan ‘trn’ Bölgelerine Göre Araştırılması, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 124s, Elazığ.
- Sanger F., Coulson A.R. (1975) A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, 94 (3), 441–8.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Nature*, 74(12), 5463–5467.
- Sarıçam, S., Müştak, K. (2015). Filogenetik Ağaçlandırma Metotları, *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(2), 58–64.

- Saslis-Lagoudakis, C. H., Savolainen, V., Williamson, E. M., Forest, F., Wagstaff, S. J., Baral, S. R., Watson, M. F., Pendry, C. A., Hawkins, J. A. (2012). Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(39), 15835–15840.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. (1998). Tohumlu Bitkiler Sistematığı, Ege Üniversitesi Basımevi, 236-240, Bornova-İzmir.
- Sharma, S., Rustgi, S., Balyan, H., Gupta, P. (2002). Internal transcribed spacer (ITS) sequences of ribosomal DNA of wild barley and their comparison with ITS sequences in common wheat, *Barley Genet Newslett*, 32,38–45.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., Small, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III., *American Journal of Botany*, 94(3), 275-288.
- Singh, A., Roy, R.P. (1970). Karyological studies in *Trigonella*. Indigofera and Phaseolus, *The Nucleus*, 13(1), 41–54.
- Širjaev G. (1928). Generis *Trigonella* revisio critica, *Brno, Czech Republic: Faculty of Science of University of Masaryk*, 16.
- Small, E. (1987a) . A taxonomic study of the “ medicagoid ” *Trigonella* (Leguminosae). *Canadian Journal of Botany*, 65,1199 – 1211 .
- Small, E. (1987b). Generic changes in Trifolieae subtribe Trigonellinae. In C. H. Stirton [ed.], *Advances in legume systematics*, 3, 169 – 181, *Royal Botanical Gardens, Kew, UK*.
- Sramkó, G. (2008). Sequence variability of the nrITS in the *Ophrys fuciflora* species-complex of the Mediterranean bee-orchid (*Ophrys* L.) genus. Department of Botany. University of Debrecen, Debrecen.
- Steele, K. P., Ickert-Bond, S. M., Zarre, S., Wojciechowski, M. F. (2010). Phylogeny and character evolution in *Medicago* (Leguminosae): Evidence from analyses of plastid trnK/matK and nuclear GA3ox1 sequences, *American Journal of Botany*, 97(7), 1142–1155.
- Tao, X., Ma, L., Zhang, Z., Liu, M., Liu, Z. (2016). Characterization of the complete chloroplast genome of alfalfa (*Medicago sativa*) (Leguminosae), *Gene Reports*, 6, 67-73.
- Taberlet, P., Gielly, L., Patou, G., Bouvet, J., (1991). Universal Primers amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA, *Plant Molecular Biology International Journal Molecular Biology Biochemistry Genetics Engineering*, 17, 1105-1109.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L., Coissac, E. (2018). Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring, *Oxford University Press*, Oxford, UK.
- Townsend C.C., Guest E. (1974). Flora of Iraq, Vol. 3. Baghdad, *Iraq: Ministry of Agriculture & Agrarian Reform*.

- Tucker, S. C. (2002). Floral ontogeny in Sophoreae (Leguminosae: Papilionoideae) III. Radial symmetry and random petal aestivation in *Cadia Purpurea*, *American Journal of Botany*, 89, 748-757.
- Turini, F. G., Bräuchler, C., Heubl, G. (2010). Phylogenetic relationships and evolution of morphological characters in *Ononis* L. (Fabaceae), *Taxon* 59(4).
- Uslu E, Babaç MT (2019). A descriptive study of some *Trifolium* L. (Clover) taxa grown in Bolu Province, *Turkish Journal of Botany* 43(5), 673-686.
- Vavilov N.I. (1926). Centers of origin of cultivated plants, *Trends in Practical Botany & General Selection*, 16, 3-24.
- Veldman, S., Ju, Y., Otieno, J. N., Abihudi, S., Posthouwer, C., Gravendeel, B., van Andel, T. R., De Boer, H. J. (2020). DNA barcoding augments conventional methods for identification of medicinal plant species traded at Tanzanian markets, *Journal of Ethnopharmacology*, 250.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., Hebert, P. D. N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857.
- Watson, L., Sayed, H. A., Badr, A. (2020). Molecular phylogeny of Old World *Trifolium* (Fabaceae), based on plastid and nuclear markers, *Plant Systematics and Evolution*, 224, 153-171.
- Xu, D.H., Abe, J., Sakai, M., Kanazawa, A., Shimamoto, Y. (2000). Sequence variation of noncoding regions of chloroplast DNA of soybean and related wild species and its implications for the evolution of different chloroplast haplotypes, *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 724-732.
- Yılmaz, S., Devran, Z. (2016). Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları, *Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü*, 20(1), 31.
- Yılmaz, R. (2021). Barkodlama ve Metabarkodlama Tekniği: Meyve ve Sebzeler için Nükleik aside Dayanan Moleküler Tanımlama, *TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Dergisi*, 48(25), 42-51.
- Zhang, D., Sang, T. (1999). Physical mapping of ribosomal RNA genes in peonies (*Paeonia Paeoniaceae*) by fluorescent in situ hybridization: implications for phylogeny and concerted evolution, *American Journal of Botany*, 86(5), 735–740.
- Zou, Y., Mason, M. G., Wang, Y., Wee, E., Turni, C., Blackall, P. J., Trau, M., Botella, J. R. (2017). Nucleic acid purification from plants, animals and microbes in under 30 seconds, *PLoS Biology*, 15(11).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Yudum YELTEKİN

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Uşak Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2007
Lise	TOKİ Köprülü Anadolu Lisesi	2002

Mesleki Denevım

Yıl	Yer	Görev
2008	Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Genetik Tanı ve Tedavi Laboratuvarı (ADANA)	Stajer

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Yılmaz A., Yeltekin Y. ‘Karyomorphology of some Crocus L. taxa from Uşak province in Turkey’ Caryologia International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics 74(4): 129-134, 2021.

Yılmaz A., Yeltekin Y. ‘The Evaluations Of Taxonomic Classifications In The Genus Trifolium L. Based On ITS Sequences’ Sakarya University Journal of Science, 26(3), 545-553.

Kongreler

- Yılmaz A., Yeltekin Y. ‘Taxonomy of the Genus *Trifolium* and the Evaluation of the Genus By Using Complete Genom of cpDNA’ Igdir International Applied Sciences Congress. Igdir University & IKSAD, April 14-15, 2021. Igdir, Turkey.
- Yılmaz A., Yeltekin Y. ‘DNA Barkodlamada cpDNA’ya Ait 4 Farklı Bölgenin Kullanımı ile *Trifolium* L. Taksonlarının Filogenetik Açısından Değerlendirilmesi’ ISPEC 10th International Conference On Engineering & Natural Sciences. Siirt University, 16-18 May (2021) Siirt, Turkey.
- Yeltekin Y., Yılmaz A. ‘Importance of matK Gene and psbA-trnH Intron Belonging to Chloroplast Genome in the Evaluation of Phlogenetic Relationships and DNA Barcoding in the Species of the Genus *Trigonella*’ 7th International ZEUGMA Conference on Scientific Reserches. Atlas International Journal, New Era International Journal and IKSAD. January 21-23, (2022) Gaziantep, Turkey.
- Yeltekin Y., Yılmaz A. ‘*Trigonella* L. (Fabaceae) Cinsine Ait Türlerde, GA3ox1 VE rbcL Gen Bölgelerinin Kullanılarak Filogenetik İlişilerin Değerlendirilmesi’ Aegean Summit 4th International Applied Sciences Congress. UBAK International Sciences Academy, February 12 - 13, (2022) Mugla, Turkey.

Projeler

- UBAP 01 - Araştırma Projesi ‘Uşak İlinde Doğal Yetişen *Crocus* L. (Çiğdem) Türlerinin Sitogenetik ve Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılarak İncelenmesi’ Uşak Üniversitesi, Yardımcı Araştırmacı. (Haziran 2021- devam ediyor)