

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASI'NDA *ASTRAGALUS* L. CİNSİNE AİT ENDEMİK
TÜRLERİN FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gülistan GENLİ
DANIŞMAN: Prof. Dr. İlhan KAYA

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASI'NDA *ASTRAGALUS* L. CİNSİNE AİT ENDEMİK
TÜRLERİN FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gülistan GENLİ

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2019-8085
No'lu proje olarak desteklenmiştir

VAN-2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. İlhan KAYA danışmanlığında, Gülistan GENLİ tarafından sunulan “Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* Cinsine Ait Endemik Türlerin Filogenetik İlişkilerinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 08/01/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / [REDACTED] ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İlhan KAYA

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA

İmza:

Üye: Prof. Dr. Hikmet Murat SİPAHİOĞLU

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..../..... tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza
Prof. Dr. Suat ŞENSOY
Enstitü Müdürü

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.

(İmza)

Gülistan GENLİ

ÖZET

VAN GÖLÜ HAVZASI'NDA *ASTRAGALUS* L. CİNSİNE AİT ENDEMİK TÜRLERİN FİLOGENETİK İLİŞKİLERİNİN BELİRLENMESİ

GENLİ Gülistan
Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İlhan KAYA
Ocak 2021, 69 sayfa

Astragalus L. cinsi Türkiye Florası'nda teşhis açısından sorunlu cinslerin başında yer almaktadır. Bu cins 469 takson içermekte ve bu taksonların 217'si endemik türlerden oluşmaktadır. Bu çalışma 2019 yılında, Van Gölü Havzası'ndan toplanan *Astragalus* L. cinsine ait endemik türlerin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. *Astragalus* L. cinsine ait 82 tür toplanmış, bu türlerin morfolojik teşhisleri yapılmış ve 19 tanesinin endemik, 2 tanesinin nadir olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada örneklerden izole edilmiş genomik DNA'lardan ITS bölgelerinin çoğaltılması için evrensel ITS4 ve ITS5 primerleri kullanılmıştır. Bu primerler yardımıyla, rDNA'da yer alan ITS1, 5,8S ve ITS2 bölgeleri PCR yoluyla çoğaltılmıştır. DNA dizilemesi yapılan *Astragalus* L. cinsine ait türlerin genom bilgileri farklı programlar (SnapGene, CLC DNA Workbench) ile analiz edilmiştir. *Astragalus* L. cinsine ait türlerden elde edilen DNA dizileri, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen bankasına kayıtları yapılarak dünyadaki tüm araştırmacıların kullanımına sunulmuştur. Bu çalışmada, nrDNA ITS bölgesi uzunluğunun 669 ile 687 baz çifti arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sonuçlarımız, evrensel ITS4 ve ITS5 primerleri ile elde edilen dizilerden türetilen en kararlı ikincil yapının, filogenetik ağaç ile kombinasyon halinde kullanıldığında *Astragalus* L. cinsine ait türlerin tanımlanması için çok etkili bir araç olduğunu açıkça göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Astragalus* spp., Moleküler filogeni

ABSTRACT

DETERMINING PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF ENDEMIC SPECIES OF *ASTRAGALUS* IN VAN LAKE BASIN

GENLİ Gülistan

M. Sc. Thesis Plant Protection Science

Supervisor: Prof. Dr. İlhan KAYA

January, 2021, 69 pages

Astragalus L. genus in Turkey Flora has been one of the species whose identification is very difficult. This genus includes 469 taxa and 217 of these taxa are endemic species. It was conducted to determine the phylogenetic relationships of endemic species belonging to the genus *Astragalus* L. collected from the Van Lake Basin in 2019. 82 species belonging to the genus *Astragalus* L. were collected, morphological identification of these species were made and it was found that 19 of them were endemic and 2 of them were rare. Universal ITS4 and ITS5 primers were used to amplify the ITS regions from genomic DNAs isolated from samples in the study. With the help of these primers, ITS1, 5,8S, and ITS2 regions in the rDNA were amplified by PCR. The genome information of the species belonging to the genus *Astragalus* L., DNA sequencing, was analyzed with different programs (SnapGene, CLC DNA Workbench). DNA sequences obtained from species belonging to the genus *Astragalus* L. were registered in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene Bank and made available to all researchers around the world. In this study, it was determined that the length of the nrDNA ITS region varied between 669 and 687 base pairs. The results clearly showed that the most stable secondary structure derived from sequences obtained with the universal ITS4 and ITS5 primers, when used in combination with the phylogenetic tree, is a very effective tool for the identification of species belonging to the genus *Astragalus* L.

Keywords: *Astragalus* spp., Molecular phylogeny

ÖN SÖZ

Tezimin her aşamasında desteğini aldığım ve akademik bakış açısını kazanmamı sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. İlhan KAYA'ya, tezimin laboratuvar çalışmalarındaki büyük desteğinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA'ya ve bitki örneklerinin araziden toplanması ve teşhis aşamasında yardımını esirgemeyen Hakkari Üniversitesi Meslek Yüksek Okulunda görevli Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer Mükemre'ye ve çalışmamın pek çok aşamasında bilgi ve önerileriyle katkıda bulunan Arş. Gör. Gökhan BOYNO'ya, Zilan Oktay'a, Necmettin TENİZ'e, Mehmet Akyol'a teşekkürü borç bilirim. Hayatımın ve çalışmamın her aşamasında beni destekleyen başta annem ve babam olmak üzere ailemin bütün üyelerine teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmaya FYL-2019-8085 noluproje ile mali destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP Kordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

2021

Gülistan GENLİ



İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | iii |
| ÖN SÖZ..... | v |
| İÇİNDEKİLER..... | vii |
| ÇİZELGELER LİSTESİ..... | ix |
| ŞEKİLLER LİSTESİ..... | xi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | xiv |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK BİLDİRİMLERİ..... | 5 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 11 |
| 3.1. Materyal..... | 11 |
| 3.2. Yöntem..... | 11 |
| 3.2.1. Survey Çalışmaları..... | 11 |
| 3.2.2. <i>Astragalus</i> L. cinsine ait endemik türlerin filogenetik ilişkilerinin moleküler düzeyde araştırılması..... | 14 |
| 3.2.2.1. Tespit edilen <i>Astragalus</i> türlerinden genomik DNA izolasyonunun yapılması..... | 14 |
| 3.2.2.2. ITS bölgesinin PCR ile çoğaltılması ve agaroz jelde elektroforez..... | 15 |
| 3.2.2.3. DNA dizilemesinin gerçekleştirilmesi..... | 16 |
| 3.2.2.4. Filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi ve DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi..... | 16 |
| 4. BULGULAR..... | 17 |
| 4.1. Van Gölü Havzası'ndan toplanan <i>Astragalus</i> L. cinsine ait türlerin teşhis edilmesi..... | 17 |

Sayfa

| | |
|--|----|
| 4.2. <i>Astragalus</i> L. Cinsine Ait Endemik Türlerin Filogenetik İlişkilerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması..... | 25 |
| 4.2.1. ITS bölgesinin PCR ile çoğaltılması ve elektroforez..... | 25 |
| 4.2.2. Filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi ve DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi..... | 27 |
| 4.2.3. Dizi Analizleri ve İkincil Yapıların tespit edilmesi..... | 31 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ | 57 |
| KAYNAKLAR..... | 65 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 69 |

ÇİZELGELERLİSTESİ

| Çizelge | Sayfa |
|---|-------|
| Çizelge 3.1. Van Gölü Havzası'ndan toplanan <i>Astragalus</i> cinsine ait endemik türlerin örnek numaraları toplandığı lokasyonlar ve koordinatları..... | 13 |
| Çizelge 3. 2. <i>Astragalus</i> L. cinsine ait türlerin PCR ile araştırılması ve sıcaklık döngüleri..... | 15 |
| Çizelge 4.1. <i>Astragalus</i> L. cinsine ait türler,örnek numaraları, toplandıkları lokasyonlar, baz uzunlukları ve Gen Bankası ulaşım numaraları..... | 28 |
| Çizelge 4.2. Bir numaralı <i>Astragalus cinerous</i> Willd. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi..... | 31 |
| Çizelge 4.3. İki numaralı <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Born. var. <i>angustus</i> adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi..... | 32 |
| Çizelge 4.4.Üç numaralı <i>Astragalus davisii</i> Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 33 |
| Çizelge 4.5. Dört numaralı <i>Astragalus sachanewii</i> Sirj. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 34 |
| Çizelge 4. 6. Altı numaralı <i>Astragalus baytopianus</i> Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi..... | 35 |
| Çizelge 4.7. Yedi numaralı <i>Astragalus delanensis</i> Sirj. & Rech. F. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 36 |
| Çizelge 4. 8. Sekiz numaralı <i>Astragalus longifolius</i> Lam. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 37 |
| Çizelge 4. 9. Dokuz numaralı <i>Astragalus tauricolus</i> Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 38 |
| Çizelge 4. 10. On numaralı <i>Astragalus gevasiensis</i> Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi..... | 39 |
| Çizelge 4. 11. On bir numaralı <i>Astragalus gymnalopecias</i> Rech. Fil. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi..... | 41 |
| Çizelge 4. 12. On iki numaralı <i>Astragalus pendulus</i> D.C.adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 42 |

| | |
|---|----|
| Çizelge 4. 13. On üç numaralı <i>Astragalus lycius</i> Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 43 |
| Çizelge 4. 14. On dört numaralı <i>Astragalus tournefortii</i> Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 44 |
| Çizelge 4.15. On altı numaralı <i>Astragalus comosoides</i> Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 46 |
| Çizelge 4.16. On yedi numaralı <i>Astragalus bashkalensis</i> Chamb. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 47 |
| Çizelge 4. 17. On sekiz numaralı <i>Astragalus pulchellus</i> Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 48 |
| Çizelge 4. 18. On dokuz numaralı <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm var. <i>xylobasis</i> adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi | 50 |
| Çizelge 4. 19. Yirmi numaralı <i>Astragalus pinetorum</i> Boiss. subsp. <i>declinatus</i> Podlech _adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit _baz dizisi | 51 |
| Çizelge 4. 20. Yirmi bir numaralı <i>Astragalus cryptocarpus</i> D.C. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 52 |
| Çizelge 4. 21. Yirmi iki numaralı <i>Astragalus hareftae</i> (Nab.) Sirj. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 54 |
| Çizelge 4. 22. Yirmi dört numaralı <i>Astragalus bicolor</i> Lam. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi. | 55 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 3.1. Van Gölü Havzası'nda <i>Astragalus</i> cinsine ait endemik türlerin toplandığı lokasyonlar..... | 12 |
| Şekil 4.1. <i>Astragalus cinerous</i> Willd.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik)..... | 18 |
| Şekil 4.2. <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Born. var. <i>angustus</i> 'a ait çiçek(a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 18 |
| Şekil 4.3. <i>Astragalus davisii</i> Chamb. & Matthews' e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 19 |
| Şekil 4.4. <i>Astragalus sachanewii</i> Sirj.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 19 |
| Şekil 4.5. <i>Astragalus baytopianus</i> Chamb. & Matthews'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik)..... | 19 |
| Şekil 4.6. <i>Astragalus delanensis</i> Sirj. & Rech. F'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik)..... | 20 |
| Şekil 4.7. <i>Astragalus longifolius</i> Lam.'a ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 20 |
| Şekil 4.8. <i>Astragalus tauricolus</i> Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü (mikroskobik)..... | 20 |
| Şekil 4.9. <i>Astragalus gevashensis</i> Chamb. & Matthews'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik)..... | 21 |
| Şekil 4.10. <i>Astragalus gymnalopecias</i> Rech. Fil'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik)..... | 21 |
| Şekil 4.11. <i>Astragalus pendulus</i> D.C'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 21 |
| Şekil 4.12. <i>Astragalus lycius</i> Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü (mikroskobik)..... | 22 |
| Şekil 4.13. <i>Astragalus tournefortii</i> Boiss.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik)..... | 22 |

| Şekil | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 4.14. <i>Astragalus comosoides</i> Chamb.& Matthews'e ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskobik). | 22 |
| Şekil 4.15. <i>Astragalus bashkalensis</i> Chamb.'a ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik). | 23 |
| Şekil 4.16. <i>Astragalus pulchellus</i> Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü (mikroskobik). | 23 |
| Şekil 4.17. <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm var. <i>xylobasis</i> 'a ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskobik). | 23 |
| Şekil 4.18. <i>Astragalus pinetorum</i> Boiss. subsp. <i>declinatus</i> Podlech'e ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskobik). | 24 |
| Şekil 4.19. <i>Astragalus cryptocarpus</i> D.C.'a ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskobik). | 24 |
| Şekil 4.20. <i>Astragalus hareftae</i> (Nab.) Sirj.' ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü (mikroskobik). | 24 |
| Şekil 4.21. <i>Astragalus bicolor</i> Lam'a ait çiçek (a,c) ve yaprak (b) görünümü (mikroskobik). | 25 |
| Şekil 4.22. <i>Astragalus</i> L.cinsine ait türlerin ITS bölgelerinin PCR ürünleri. M:Marker, 1-19 nolu örnekler. | 26 |
| Şekil 4.23. <i>Astragalus</i> L.cinsine ait türlerin ITS bölgelerinin PCR ürünleri. M:Marker, 20-24 nolu örnekler. | 26 |
| Şekil 4.24. <i>Astragalus</i> L.cinsine ait endemik türlerin CLC DNA Workbench programıyla elde edilen filogenetik ağacı. | 29 |
| Şekil 4.25. <i>Astragalus cinerous</i> Willd.'un rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 31 |
| Şekil 4.26. <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Born. var. <i>angustu</i> sadlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı | 32 |
| Şekil 4.27. <i>Astragalus davisii</i> Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 33 |
| Şekil 4.28. <i>Astragalus sachanewii</i> Sirj. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 34 |
| Şekil 4.29. <i>Astragalus baytopianus</i> Chamb. & Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 35 |
| Şekil 4.30. <i>Astragalus delanensis</i> Sirj. & Rech. F. adlı örneğin rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 36 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.31. <i>Astragalus longifolius</i> Lam. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 37 |
| Şekil 4.32. <i>Astragalus tauricolus</i> Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 39 |
| Şekil 4.33. <i>Astragalus gevashensis</i> Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı | 40 |
| Şekil 4.34. <i>Astragalus gymnalopecias</i> Rech. Fil. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 41 |
| Şekil 4.35. <i>Astragalus pendulus</i> D.C.adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 42 |
| Şekil 4.36. <i>Astragalus lycius</i> Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 44 |
| Şekil 4.37. <i>Astragalus tournefortii</i> Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. ... | 45 |
| Şekil 4.38. <i>Astragalus comosoides</i> Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 46 |
| Şekil 4.39. <i>Astragalus bashkalensis</i> Chamb. rRNA dizisine ait ikincil yapı. | 47 |
| Şekil 4.40. <i>Astragalus pulchellus</i> Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 49 |
| Şekil 4.41. <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm var. <i>xylobasis</i> adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı | 50 |
| Şekil 4.42. <i>Astragalus pinetorum</i> Boiss. subsp. <i>declinatus</i> Podlech adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı..... | 51 |
| Şekil 4.43. <i>Astragalus cryptocarpus</i> D.C.adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 53 |
| Şekil 4.44. <i>Astragalus hareftae</i> (Nab.) Sirj. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 54 |
| Şekil 4.45. <i>Astragalus bicolor</i> Lam. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı. | 55 |
| Şekil 5.1. <i>Astragalus</i> L.cinsine ait endemik türlerin CLC DNA Workbench programıyla elde edilen filogenetik ağacı. | 59 |



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklama

mg/ml

miligram/mililitre

µl

Mikrolitre

dk

Dakika

ml

Mililitre

g

Gram

Bp

Baz Çifti

Rpm

Dakikadaki Döngü Sayısı

C

Santigrad

Kısaltmalar

Açıklamalar

rDNA

Ribozomal Deoksiribonükleik Asit

ITS

Internal Transcribed Spacer

DNA

Deoksiribo Nükleik Asit

cDNA

Complementary DNA (Komplementer DNA)

RNA

Ribonükleik asit

nrRNA

Nüklear Ribozomal RNA

nrDNA

Nüklear Ribozomal DNA

BLAST

The Basic Local Alignment Search Tool

T

Timin

C

Sitozin

G

Guanin

A

Adenin

MgCl₂

Magnezyum Klorür

PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Taq DNA Polimeraz

Termo-stabil DNA Polimeraz Enzimi

NCBI

National Center for Biotechnology
Information

mtDNA

Mitokondri DNA'sı

cpDNA

Kloroplast DNA

RNaz

Ribonükleaz Enzimi



1. GİRİŞ

Dünya'nın en kapsamlı cinslerden biri olan *Astragalus* L. cinsi 2900'e yakın taksonla temsil edilmektedir (Podlech ve Zarre, 2013). Ülkemizdeki en yaygın cins olan *Astragalus* L. Türkiye Florasında 62 seksiyon (grup) ve 469 taksona ayrılmaktadır (Chamberlain ve Matthews, 1970; Davis ve ark., 1988; Podlech, 1999; Aytaç, 2000; Duman ve Akan, 2003; Aytaç ve ark., 2012). Türkiye Bitkiler Listesi'ni göz önünde bulundurduğumuzda ülkemizde yer alan 469 Geven (*Astragalus* L.) taksonununun 217'si endemik olup tamamı çok yıllıktır ve endemizm oranı % 46.2'dir (Aytaç ve ark., 2012).

Dünya'da *Astragalus* L. cinsine ait 2500-3000 grup bulunmaktadır. Bunlar eski dünya ve Yeni Dünya türleri olarak ayrılmaktadır. Yaşam formu bakımından 64 takson otsu, 33 bodur veya cüce çalı, 27 çalı, 7 odunsu-ot ve 5 yarı-çalı şeklinde olup, 75 taksonun ise durumu belirlenememiştir. Bölgelerimize göre en fazla *Astragalus* taksonu İç Anadolu Bölgesi'nde (100 takson) (%29.1) tespit edilirken, bu bölgeyi sırasıyla; 77 takson (%22.4) ile Akdeniz, 63 takson (%18.3) ile Doğu Anadolu ve 52 takson (%15.1) ile Karadeniz bölgeleri izlemiştir (Başbağ ve ark., 2018).

Fabaceae familyasında yer alan ve *Astragalus* L. cinsinden olan Geven Asya'nın kurak ve yarı kurak bölgelerinde, Türkiye'nin Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgesi'nde 1300-3500 metre, İç Ege ve Toroslar'da ise 1300-2300 metre yükseltilerde orman step ve dağ yamaçlarında yayılış göstermektedir. Bu cins dağlık yörelerde çok sık görülmektedir (Akan ve ark., 2007).

Türkiye florası tür zenginliği yanında çok sayıda endemik taksonu içermesi ile de ilginçtir. Endemizm: Bir bitki türünün dar bir bölgede sınırlanmış halde bulunmasıdır. Endemizm, floristik bölgeleri tanımak ve o yerin floristik özelliklerini tayin etmek açısından oldukça önemli bir kriterdir. Avrupa'nın çeşitli ülkelerinde yetişen endemik türler toplamı 2750 kadar iken bu sayı Türkiye'de 3000 civarındadır (Anonim, 2017). Fabaceae familyasına ait 375 tür endemiktir. Ülkemiz *Astargalus*L. cinsine ait tür sayısı yönünden dünyada en zengin 3. ülke olup endemizm oranı sıralamasında ise 3. sıradadır (Aytaç ve ark., 2012).

Geven, baklagiller (Fabaceae) familyasından bir bitki olup tek yıllık, otsu çalımı ve çok yıllık türleri içermektedir. Bazı gevenler, yastık kümeler oluştururken bazı gevenler dikenli olabilmektedir. Yapraklar tüysü, yaprakçıklar oval sivri, çiçekler

ise sarı, beyaz, mor ve pembe olabilmektedir. Geven türleri içerisinde en iyi bilinenler, gövdelerinden kitre adı ile anılan zamk çıkarılan *Astragalus brachycalyx* Boiss., *A. gummifer* L., *A. kurdicus* Boiss. ve *A. microcephalus* Willd.'tur. Türkiye, İran, Kafkasya ve Afganistan olmak üzere çeşitli bölgelerde geven üretimi yapılmaktadır (Avcı ve ark., 2012). Son araştırmalar bu cinsin insan hayatının önemi açısından çok değerli olabileceğini göstermiştir. *Astragalus* L. cinsinin bazı dikenli türleri "GumTragacantha" denilen "Kitre" elde etmek için kullanılmaktadır. Kitre çoğunlukla *Astragalus* L. cinsine ait bazı türlerin kök veya gövdelerinden elde edilen hidrofilik ve kolloidal özelliklere sahip olup oldukça önemlidir. Geçmiş yıllardan beri kitre, dondurma yapımında, losyon elde edilmesinde, farmasotik açıdan faydalanılmasında ve ebru sanatında kullanılan önemli bir maddedir. Yurdumuzda en çok *Astragalus microcephalus* Willd. türünden kitre zamkı elde edilmektedir (Kadıoğlu ve ark., 2008).

Doğu Anadolu meralarında yapılacak olan maneşman ve ıslah çalışmalarında yabancı yonca ve üçgül türleriyle *Astragalus* türleri (*Astragalus caudiculosus* Boiss., *A. Ornithopodoides* Lam. gibi), havlı brom (*Bromus inermis* Leyss.), adi parlak ot (*Koeleria cristata* L.), domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.), dağkelp kuyruğı (*Phleum montanum* K. Koch), çayır düğmesi (*Poterium sangiosorba* L.) gibi hayvanların en çok tercih ettiğı yem bitkilerinin başında gelmektedir (Koç ve Gökkuş, 1998).

Geven'in anavatanı Çin'dir. Bu sebeple tıp alanında kullanılan türüne genellikle "Çin Geveni" adı verilir (Anonim, 2018). *Astragalus* türlerinin kökleri ter önleyici, idrar söktürücü ve canlandırıcı olarak çok eskiden beri geleneksel ilaç olarak bilinmektedir. Ayrıca şeker hastalığı, böbrek iltihabı, kan kanseri ve rahim kanseri tedavilerinde de kullanılmaktadır. Türkiye'de Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde *Astragalus* L. köklerinden elde edilen sıvı ekstrakt, kan kanseri ve yara iyileştirme özelliğı nedeniyle geleneksel olarak kullanılmaktadır (Bedir ve ark., 2000).

Astragalus'un şifalı bitkiler arasında yer alan bazı türleri vardır. Bu türler; analjezik ve ağrı dindirici olan *Astragalus glycyphyllus* L. ve *Astragalus cicer* L. mide-bağırsak iltihabı, tansiyon ve diğeri ağrılarda ve haricen siyatikte kullanılmaktadır. *Astragalus gummifer* L. mukoza üzerine koruyucu etkisinden dolayı boğaz enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Kadıoğlu ve ark., 2008).

Her türlü toprak şartlarında yayılış gösteren ve kuvvetli kökleriyle toprağı saran geven, toprağı tutma ve örtme özelliğı nedeniyle toprak koruma ve erozyon açısından

çok önemli bir özelliğe sahiptir ve bu bitkiler toprağın koruyuculuğunu yapmaktadırlar (Yılmaz ve ark., 2002). Bazı geven türlerinin 4 ile 6 adedi toprakta da geniş yer kapladıklarından dolayı toprağı korumakta ve toprağın sürüklenmesini engellemektedir. Genellikle kurak ve ağaçsız alanlarda, 3-5 m derinliğe kadar inen gevenlerin köklerinin erozyon önleyici özellikleri vardır (Kaçmaz, 2007; Kadioğlu ve ark., 2008).

Arıcılar için oldukça ilgi çekici olan geven balının, kokusu ve tadı oldukça zengin olup dünyaca ün kazanan Anzer balı kalitesindedir. Oldukça kaliteli olan Şemdinli balının da kokusu tadı ve kalitesinin *Astragalus* L. bitkisinden kaynaklandığı çoğu arıcı tarafından bilinmektedir (Kaçmaz, 2007).

Çok sayıda böcek türü için konukçu görevinde olan geven bitkisi bilinçsiz bir şekilde yakacak olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda hayvanların beslenmesinde yem olarak kullanılmasından dolayı tahrip edilmektedir. Tüm bu sebepler çok sayıda böcek türünün yok olmasına neden olmaktadır. Bu bitkilerin tahrip edilmesi doğal düşman popülasyonunu azaltmaktadır (Öncüer, 1995).

Günümüzde ribozomal DNA üzerinde yer alan İç Transkribe Olan Boşluklar (Internal Transcribed Spacers, ITS) bölgesinin PCR ile çoğaltılması, yakın akraba türlerin ve popülasyonların filogenetik analizi için popüler bir seçenek durumundadır. ITS bölgelerinin bu popülerliği korunmuş rDNA bölgelerine bağlanabilen universal primerlerin üretilmesiyle artmıştır. ITS baz sıralarının analizi sonucunda elde edilen veriler, taksonomik kategorilerdeki mevcut problemlerin çözümünde önemli katkılar sağlamaktadır. Genellikle taksonlara ait ITS varyasyonlarına bakılarak ilgili taksonların akrabalıkları belirlenmeye çalışılmaktadır (Baldwin ve ark., 1995). ITS, sayısız sistematik çalışmada çok geniş bitki çeşidinde cins ve tür seviyesinde kullanılmıştır. İki iç boşluk ITS-1 ve ITS-2, 5.8S, 18S ve 26S nüklear ribozomal RNA (nrRNA) alt ünitelerini kodlayan genlerin arasında yerleşmiştir. ITS-1 ve ITS-2 boşlukları ve bunlara ek olarak 5.8S geni ITS bölgesi olarak adlandırılır. ITS-1 ve ITS-2 yaklaşık olarak 300 bp uzunluğunda, 5.8S alt ünitesi ise kapalıtohumlular içerisindeki uzunluğu sabittir ve 163-164 bp uzunluğundadır (Baldwin, 1992).

ITS bölgesinin amplifikasyonu ve dizilenmesi için universal primerler kullanılabilir. Primerler fungal rRNA amplifikasyonu için orijinal olarak dizayn edilmiştir ve maya (*Saccharomyces*), böcek (*Drosophila*) ve bitki (*Oryza sativa* and *Hordeum vulgare*) dizilerinden köken almıştır (White ve ark., 1990). ITS-1 ya da ITS-2

bölgelerinin dizi analizi sonuçlarına dayanan filogenetik ağaçlar diğer diziler tarafından desteklenmeyen sonuçlar ortaya çıkartabilir. Bu yüzden ITS-1 ve ITS-2 bölgelerinden elde edilen bilgilerin birleştirilmesi ile açığa çıkan sonuçlar daha doğru, sağlam ve tam ağaçlar ortaya çıkartır (Baldwin ve ark., 1995; Baldwin, 1992).

Bu çalışma ile Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* L.cinsine ait endemik türler biriktirilerek, türler arasındaki akrabalık dereceleri filogenetik analiz yöntemleriyle belirlenmeye çalışılmıştır. Bitki teşhisinde kullanılan moleküler yöntemler bu anlamda büyük kolaylıklar sağlamakta ve bir cinse ait türleri birbirinden ayırt etmede sistematik teşhiste yapılan hataları ortadan kaldırmaktadır.



2. KAYNAK BİLDİRİMLERİ

Astragalus'un tarihi çok uzun yıllara dayanmaktadır. Tournefort doğudan topladığı dikenli *Astragalus* türleri için ilk defa *Tragacantha* ismini kullanmıştır. *Tragacantha* türleri Yunanca *Tragum*=keçi, *Acanthos*=diken anlamlarına gelmektedir. Ancak bir cins ismi olarak *Tragacantha* Miller tarafından geçerli bir isim olarak yayınlanmıştır. Linneus ise *Astragalus*'u cins ismi olarak kabul etmiştir (Anonim, 2019a).

Podlech (1983) tarafından yaprak rakisleri dikenli, yaprak dizilişi paripinnat ve çiçekleri yaprak koltuğundan çıkan türler *Astracantha* adı altında ayrı cins olarak verilmiştir. Ancak *Astracantha* ve *Astragalus*'un pek çok türü arasındaki yakın akrabalık ve aradaki geçiş türlerinin olmasından dolayı tekrar birleştirilmiştir.

Angiospermilerin en büyük cinslerinden biri olan *Astragalus* L. cinsi Fabaceae familyasında yer alan ve dünya çapında yaklaşık 250 bölüm ve 2500 tür içeren büyük bir cinstir (Townsend, 1974; Lock ve Simpson, 1991; Podlech, 1986; Sanderson 1991).

Astragalus L. cinsi çoğunlukla Güney Amerika ve kuzey yarım kürenin soğuk bölgelerinde yayılış göstermiştir. *Astragalus* L. cinsi Güneybatı Asya'da 1,000-1,500 tür, Çin- Himalaya Bölgesi'nde 500 tür, Kuzey Batı Amerika'da 400 ile 450 tür ve Güney Amerika da ise And dağları boyunca 100-150 tür barındırır (Barneby, 1964).

Astragalus L. cinsi ayrıca Akdeniz iklimlerinde Kuzey ve Güney Amerika'nın Batı sahillerinde ve Avrupa'da çeşitlilik gösterir. Birçok *Astragalus* türü, genellikle ender olarak marjinal habitatlarda dağılım gösteren veya özel substratlarla ilişkili nadir endemiklerdir. Bununla birlikte, birçok ılıman otsu angiosperm cinsi, *Astragalus* L. ile benzer ekolojik ve biyocoğrafik özelliklere sahip olması tür zenginliğini göstermektedir. Bu nedenle *Astragalus* L. cinsinin evrimsel süreçleri benzersiz bir inceleme fırsatı sunar (Allen ve Allen, 1981).

Çin'de 278 tane *Astragalus* türünün bitkisel ilaç, hayvan yemi, yeşil gübre, bal üretimi için kaynak sağladığı vetoprağı erozyondan korumak için rüzgar koruyucu olarak ve selenyum ve uranyum kirlilik göstergesi olarak hizmet verdiği kaydedilmiştir. Yaklaşık 90 tane *Astragalus* türünün nodül bakterilerle köklü simbiyoz (ortak yaşam şekli) oluşturduğu ortaya çıktığı belirtilmiştir (Allen ve Allen, 1981).

Astragalus L. cinsine ait endemik taksonların çoğu dağlarda ve kurak bölgelerde yaşarlar, yastıklı, dikenli vejetatif formdadır ve genellikle 'trajikantik' veya dikenli *Astragalus* olarak adlandırılırlar. Lübnan'daki dikenli *Astragalus* türleri beş bölümle temsil edilir ve bu türlerin bazıları ekonomik açıdan önemlidir. Çünkü değerli trajikantik sakızı üretirler (Gentry, 1957; Zarre-Mobarakeh, 2000).

Yirminci yüzyılda, *Astragalus* L. cinsi ile ilgili çalışmaların temeli taksonomik, anatomik ve morfolojik karakterin temeline dayanıyordu. Bununla birlikte, bu cins özellikle habitatlarında, bitkilerin büyüklüğü, çiçeklenme şekilleri ve sepal yaprakları ve kabuk yapısı değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Podlech, 1982; Podlech, 1984; Podlech, 1990; Zarre ve Podlech, 1997).

Demirkuş tarafından yürütülen Van Gölü Havzası Sanal Herbaryumu çalışmasında, Van Gölü Havzası'nda bulunan *Astragalus* L. cinsine ait türlerin sistematiği araştırılmış ve bu türlerin habitaları, ne kadar yükseklikte ve nerde yetiştikleri, en önemlisi de endemik olup olmadıkları hakkında bilgiler verilmiştir. Mevcut çalışmada *Astragalus* L. cinsine ait 430 takson belirlenmiş ve bunların 41 tanesinin endemik olduğu tespit edilmiştir (Anonim, 2019b).

Bitki moleküler sistematiği son 25 yıldır hızla gelişmektedir (Wen ve ark., 1997; Kellogg, 1998). Bu gelişme dizi analizlerinin kullanılmasıyla (Ro ve ark., 1997) ve yeni filogenetik analiz metodlarının bulunmasıyla (Podoplelova ve Ryzhakov, 2005) moleküler sistematiğe de katkı sağlamaya başlamıştır. Morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu zamanlarda dizi analizleri filogenetik analizler için çok faydalı olmaktadır (Yokoyama, 2000). Dizi analizi yöntemleri canlıların coğrafik orijinlerinin bulunmasından (Allan ve ark., 2004) moleküler olarak canlıların filogenilerini ispatlamaya kadar (Cohen ve Weydmann, 2005; Ogden ve Whiting, 2005) birçok alanda kullanılmaktadır.

Filogenetik analiz çalışmalarında yeni metodların keşfedilmesiyle kapalı tohumluların erken evrimini netleştirmek daha kolay olmuştur (Podoplelova ve Ryzhakov, 2005). 1960'lara kadar, sistematik bilgiler morfolojik ve davranışsal varyasyonlara dayanılarak bulunmuştur. 1960'lardan sonra biyolojik makromoleküller evrimsel ve sistematik çalışmalarda önemli rol almışlardır (Soltis ve ark., 1997).

Evrimsel ilişkileri görsel olarak ortaya koymak için en uygun yöntem filogenetik ağaçlardır. Dizileme çalışmalarıyla kazanılan bilginin özetlenmesine ve görsel olarak anlaşılabilmesine yardımcı olur (Baldwin, 1992).

Moleküler bitki sistematigi çalışmalarında nükleer ve organel genom veri kaynağı olarak kullanılmaktadır. Mitokondri DNA'sı oldukça değişken olduğundan sistematik çalışmalarda büyük çoğunlukta nükleer DNA ve kloroplast DNA (cpDNA)'sı kullanılmaktadır. Bu amaçla genomik DNA, mtDNA ve cpDNA üzerindeki birçok özel bölgeden yararlanılmaktadır. Özellikle daha önceden bilinen ve klasik taksonomik yöntemlerle çözüme kavuşturulamayan birçok sistematik problem, moleküler verilerden elde edilen deliller sayesinde aşılabilmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden biri de nrDNA bölgesi üzerinde ITS (Internal Transcribed Spacers) bölgesidir (Baldwin ve ark., 1995).

Moleküler biyolojideki son gelişmeler, türe özgü gen bölgelerinin belirlenmesiyle bitki türlerinin tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Buna yönelik olarak, rDNA'nın ITS bölgeleri, bitkilerdeki moleküler sistematik çalışmalarda çoğunlukla başvurulan yöntemlerden biri olmuştur (Baldwin ve ark., 1995).

ITS bölümleri cins ve tür seviyesinde yapılacak filogenetik bir çalışma için en uygun ve güvenilir metodlardan biridir. Bu nedenle ribozomal DNA internal transcribed spacers (rDNA ITS) bitki sistematigi ve tanımlamada sahip oldukları genomik bölümlerin işleviyle paralel olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanımdaki avantajı ribozomal DNA'nın yüksek düzeyde konservatif genlere sahip olması ve ITS bölümleri arasında konumlanmasıdır (Baldwin ve ark., 1995).

ITS bölgeleri, bitkilerdeki moleküler sistematik çalışmalarda son yıllarda çoğunlukla kullanılan bir bölgeye dönüşmüştür (Baldwin ve ark., 1999). Böyle çalışmalarla, taksonların nrDNA ITS bölgeleri çoğaltılıp baz polimorfizmi dikkate alınarak taksonlar içerisindeki akrabalık dereceleri tespit edilebilmektedir. Son yıllarda bitki türlerinin tanımlanmasında morfolojik karakterlerin yanı sıra moleküler verilerin kullanılması hız kazanmıştır (Mummenhoff ve ark., 1997).

Günümüzde İç Transkribe Olan Boşluklar (Internal Transcribed Spacers, ITS) bölgesinin PCR ile çoğaltılması, yakın akraba türlerin ve populasyonların filogenetik analizi için popüler bir seçenek durumundadır. ITS bölgelerinin bu popülerliği korunmuş rDNA bölgelerine bağlanabilen evrensel primerlerin üretilmesiyle artmıştır.

ITS bazsıralarının analizi sonucunda elde edilen veriler, taksonomik kategorilerdeki mevcut problemlerin çözümünde önemli katkılar sağlamaktadır. Genellikle taksonlara ait ITS varyasyonlarına bakılarak ilgili taksonların akrabalıkları belirlenmeye çalışılmaktadır (Baldwin ve ark., 1995). ITS sayısız sistematik çalışmada çok geniş bitki çeşidinde cins ve tür seviyesinde kullanılmıştır. İki iç boşluk ITS-1 ve ITS-2, 5.8S, 18S ve 26S nükleer ribozomal RNA (nrRNA) alt ünitelerini kodlayan genlerin arasında yerleşmiştir. ITS-1 ve ITS-2 boşlukları ve bunlara ek olarak 5.8S geni ITS bölgesi olarak adlandırılır. ITS-1 ve ITS-2 yaklaşık olarak 300 bp uzunluğunda, 5.8S alt ünitesi ise kapalı tohumlular içerisindeki uzunluğu sabittir ve 163-164 bp uzunluğundadır (Baldwin, 1992).

Tüm RNA'lar Watson-Crick, Hoogsteen veya kompliman kenarlı hidrojen bağ desenleri aracılığıyla baz çifti oluşturma kapasitesine sahiptir (Leontis and Westhof, 2001; Schroeder ve ark., 2004). Moleküller arası RNA baz eşleşmesi, RNA'nın kodlama ve replikatif yeteneklerinin temelini oluşturur ve RNA'nın, RNA'ya yönelik DNA metilasyonu (RdDM) ve mikroRNA aracılı gen susturma gibi işlemlerin aktivitesine rehberlik etmede bir özgülük faktörü olarak hizmet etmesini sağlar. Molekül içi RNA baz eşleşmesi, RNA ikincil yapısının temelidir ve genel makromoleküler katlamanın kritik bir belirleyicisidir. Kofaktörler ve RNA bağlayıcı proteinler (RBP'ler) ile birlikte ikincil yapı, daha yüksek dereceli üçüncül yapılar oluşturur ve RNA'ya katalitik, düzenleyici ve iskele fonksiyonları verir. Buna karşılık, hem kodlayan hem de kodlamayan RNA'ların ikincil yapısını bozmak, yaygın fizyolojik karışıklıklara neden olabilir (Vandivier ve ark., 2016).

Baz çiftleri, çift sarmallar, döngüler, şişkinlikler ve tek sarmalların sembolik temsillerine sahip RNA ikincil (2°) yapılar, RNA'nın üç boyutlu (3B) yapısını, katlanmasını ve işlevini anlamak, düzenlemek ve ayrıştırmak için dallar oluşturarak geniş bir bilgi yelpazesini temsil etmektedir. Son derece büyük ve oldukça karmaşık üç boyutlu nesnelere olan ribozomları anlamak için doğru ve erişilebilir ikincil yapılar oldukça önemlidir (Petrov, 2014).

Gong ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada, *Astragal adsurgens* Pall.'in transkriptom dizileme verilerine dayanarak polimorfik EST-SSR markırlarını geliştirip, bunları genetik çeşitliliğin analizinde kullanmışlardır. Çalışmada, Illumina sekansı kullanarak *Astragalus adsurgens* Pall. transkriptomundaki 30.262 unigen sekansından

toplam 39.163 EST-SSR lokusu tanımlanmıştır. Bu çalışmanın, *A. adsurgens* germplazm gelişimi ve genetik çeşitlilik analizi için önemli bir kaynak niteliğinde olduğu vurgulanmıştır.

Massatti ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada, nesli tükenmekte olan *Astragalus cremnophylax* Barneby, *A. humillimus* ve *A. gray* için etkili korumayı sağlamak amacıyla, grubun taxonomisini netleştirerek iki türün genetik çeşitliliğini AFLP yöntemini kullanarak karakterize etmişlerdir. Çalışmanın yapıldığı bazı bölgelerde düşük seviyelerde genetik çeşitlilik ve popülasyonlar arasında güçlü farklılaşma olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar *A. humillimus*'un geniş kapsamlı genetik analizinin bu takson için koruma altına alınma stratejileri hakkında bilgi verebileceğini göstermektedir.

2017 yılında Ateş tarafından yapılan bir çalışmada, kloroplast DNA'sına ve nükleer genom bölgelerine ait DNA dizileri kullanılarak altı adet *Astragalus* seksiyonuna ait toplam otuz türün filogenetik ilişkileri ve türleşme zamanları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışılan *Astragalus* seksiyonları içerisinde *Halicacabus* ve *Megalocystis* seksiyonları genetik açıdan birbirlerine en yakın seksiyonlar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada Dünyanın diğer bölgelerinde yayılış gösteren bazı *Astragalus* türlerinin Türkiye'deki çalışılan türlerle olan filogenetik ilişkilerini anlamak amacıyla, bu çalışmada kullanılan bölgelerin DNA dizileri NCBI veri tabanından alınmış ve çalışmada kullanılan Türkiye örnekleri ile birlikte analiz edilmiştir. Tüm çalışılan bölgelere göre, Türkiye örnekleri eski dünya türlerine yakın pozisyon alsalar da, Yeni Dünya türlerine genetik açıdan daha yakın olduğu görülmektedir. Çin, Kore, Avusturalya'dan alınan bazı eski dünya türleri ise Yeni Dünya türlerine daha yakın pozisyon almışlardır. Bu veriler ışığında Türkiye türlerinin genetik açıdan farklı oldukları tespit edilmiştir.

Scherson ve ark. (2008), And Dağları'nda yoğun olarak bulunan *Astragalus* L. (Leguminosae; Papilionoideae) cinsine ait türlerin filogenetik ilişkilerini çalışmışlardır. Bu çalışmada 48 *Astragalus* cinsine ait tür çalışılmış ve moleküler markerler ve DNA amplifikasyonu için ribozomal DNA'nın 5.8S ITS primerleri kullanılmıştır. *Astragalus* cinsine ait en yüksek çeşitliliğin Orta Asya'da olmasına rağmen, önceki çalışmalar (Wojciechowski ve ark., 1999; Wojciechowski, 2005),

Güney Amerika'daki Neo-*Astragalus* L. soylarının Kuzey Amerika'dan geldiğini öne sürmüşlerdir. Çalışmada ITS veri dizileri kullanılarak filogenetik analiz yapılmıştır.

Osaloove ark. (2005), nrDNA ITS dizi verilerinden Eski Dünya *Astragalus* (Fabaceae)'un moleküler sistematığını çalışmışlardır. Bu çalışmada, nrDNA ITS bölgesi uzunluğunun 567 ile 613 baz çifti arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, araştırmacılar Kuzey Amerika euploid *Astragalus* L. cinsine ait türlerin Eski Dünya grupları arasında dağılmış olduğunu ortaya koymuşlardır.

Dizkirci ve ark. (2014), yaptıkları bir çalışmada *Astragalus* L. (Fabaceae) cinsine ait Türkiye (Eski Dünya türleri) ve Yeni Dünya türlerinden üç tür üzerinde nrDNA ITS dizileri kullanılarak karşılaştırmalı moleküler filogenetik çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Filogenetik ağaçta, *Astragalus* bölümleri arasında çalışılan Incani DC., evrimsel olarak diğer bölümlerden ayrılmış ve en fazla korunan ITS bölgesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmada karşılaştırmalı olarak analiz edilen birkaç Yeni Dünya (Neo-) *Astragalus* cinsine ait türün DNA sekansları, *Astragalus*'un Yeni Dünya aneuploid türlerinin açıkça Eski Dünya türlerinden ayrılmış bir grup oluşturduğunu göstermiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

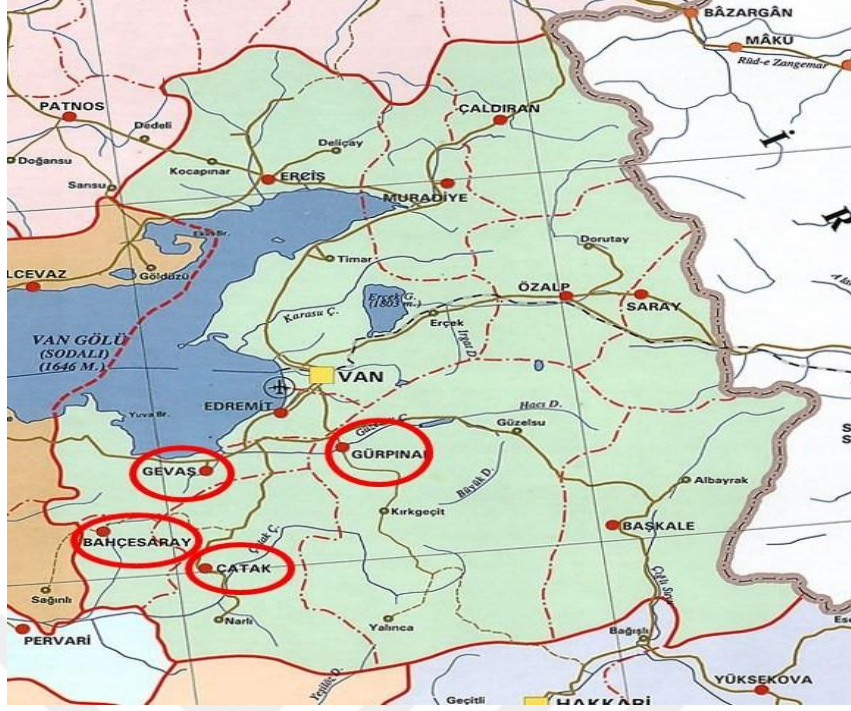
3.1. Materyal

Bu çalışmanın materyalini, *Astragalus* L. cinsine ait 19 endemik ve 2 nadir tür oluşturmaktadır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Survey Çalışmaları

Çalışma Van Gölü Havzası'nda 2019 yılı vejetasyon döneminde yürütülmüştür. Temmuz ayında yürütülen arazi çalışmasında *Astragalus* L. cinsine ait taksonların toplanması amacıyla belirli lokasyonlara gidilerek fenotopik ve genotopik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla bitki örnekleri toplanmıştır. Bu amaçla; Van'ın Çatak, Bahçesaray, Gürpınar ilçelerinden, Görentaş köyü, Yapılı köyü, İnköy, Yukarı Narlıca köyü, Hoşap Üçgen Köy, Atlıhan köyü, Kanalga köyü ve Güzeldere geçidine gidilerek bitki örnekleri toplanmıştır. (Şekil 3.1.). Toplanan örnekler herbaryum örnekleri haline getirilmiş morfolojik teşhisleri yapılmış ve yapılan bu teşhislere göre belirlenen türler ve koordinatları Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* L. cinsine ait endemik türlerin toplandığı lokasyonlar.

Çizelge 3.1. Van Gölü Havzası'ndan toplanan *Astragalus* L. cinsine ait endemik türlerin örnek numaraları toplandığı lokasyonlar ve koordinatları.

| Örnek numarası | Toplanan Örnekler | Lokasyonlar | Koordinatlar |
|----------------|---|---|--------------------------------------|
| 1 | <i>Astragalus cinerous</i> Willd. | Van-Çatak, Kızıldağ Çatağa doğru 4 km | 38°.15'.30'' N43°.15'.115''E1897m |
| 2 | <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Born. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint) Freyn Bornm | Van-Bahçesaray, Baheçesaray Kerpit geçidi arası | 38°.8'.300''N42°.51'.3350''E2341m |
| 3 | <i>Astragalus davisii</i> Chamb.&Matthews | Van-Bahçesaray, Baheçesaray Kerpit geçidi arası | 38°.8'.300'' N42°.51'.3350''E2341m |
| 4 | <i>Astragalus sachanewii</i> Sirj. | Van-Bahçesaray, Baheçesaray Kerpit geçidi | 38°.91'.92''N42°.54'.161''E3047m |
| 6 | <i>Astragalus baytopianus</i> Chamb. & Matthews | Van-Görentaş, Vandan Görentaşa doğru Görentaş girişi | 38°.10'.996'' N43°.12'.925'' E2188m |
| 7 | <i>Astragalus delanensis</i> Sirj. & Rech. F. | Van-Yapılı Köy, Yapılı Köy'ünden Bahçesaraya doğru yapılı köy'ün çıkışı | 38°.94'.87'' N42°.58'.506''E2400m |
| 8 | <i>Astragalus longifolius</i> Lam. | Van-Bahçesaray, Bahçesarayla Kerpit geçidi arası | 38°.8'.300'' N42°.51'.3350''E2341m |
| 9 | <i>Astragalus tauricolus</i> Boiss. | Van-Gürpınar, Cevizalan-Umut köyleri arası | 38°.19'.168'' N43°.36'.565''E2128m |
| 10 | <i>Astragalus gevashensis</i> Chamb. & Matthews | Van- İnköy, İnköyden Altınşaç'a girişi | 38°.25'.811''N42°.53'.102''E1808m |
| 11 | <i>Astragalus gymmalopecias</i> Rech. Fil. | Van-Yukarı Narlıca köyünden bahçesaraya doğru Yapılı köyün çıkışı | 38°.7'.350'' N43°.3'.129'' E2250m |
| 12 | <i>Astragalus pendulus</i> D.C. | Van-Çatak, Yukarı Narlıca köyü batısı | 38°.08'.463'' N43°.02'.249''E2291m |
| 13 | <i>Astragalus lycius</i> Boiss. | Van-Hoşap Üçgen köy yolunun sonunda, | 38°.19'.421'' N43°.48'.494'' E230m |
| 14 | <i>Astragalus tournefortii</i> Boiss. | Van-Çatak, Atlıhan köyü | 37°.54'.542'' N42°.52'.214'' E1790m |
| 16 | <i>Astragalus comosoides</i> Chamb. & Matthews | Van-Çatak, Kanalga köyü Tanrıverdi Mezrası | 37°.52'.422'' N43°.01'.282'' E1676m |
| 17 | <i>Astragalus bashkalensis</i> Chamb. | Van- Güzeldere Geçidi bakımevi çevresi | 38°.10'.642'' N43°.54'.770'' E2742m |
| 18 | <i>Astragalus pulchellus</i> Boiss. | Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıda | 38°.11'.511'' N43°.54'.606'' E2700 m |
| 19 | <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm var. <i>xylobasis</i> | Van-Bahçesarayla Kerpit Geçidi arası | 38°.8'.300'' N42°.51'.3350''E2341 m |
| 20 | <i>Astragalus pinetorum</i> Boiss. subsp. <i>declinatus</i> Podlech | Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıda | 38°.11'.511'' N43°.54'.606'' E2700 m |
| 21 | <i>Astragalus cryptocarpus</i> D.C. | Van- Çatak | 38°.55'.311'' N43°.47'.303'' E1949 m |
| 22 | <i>Astragalus hareftae</i> (Nab.) Sirj. | Van'dan Görentaşa doğru Görentaş girişi | 38°.10'.996'' N43°.12'.925'' E2188 m |
| 24 | <i>Astragalus bicolor</i> Lam. | Van- Güzeldere çıkışı | 38°.11'.511'' N43°.54'.606''E2700 m |

3.2.2. *Astragalus L.* cinsine ait endemik türlerin filogenetik ilişkilerinin moleküler düzeyde araştırılması

Bu aşamada sırasıyla aşağıdaki yöntemler uygulanmıştır;

3.2.2.1. Tespit edilen *Astragalus* türlerinden genomik DNA izolasyonunun yapılması

DNA izolasyonu için arazi çalışması sırasında seçilmiş ve herbaryum örneği haline getirilmiş örneklerin yaprakları kullanılmıştır. Mevcut çalışmanın temel materyalini teşkil eden bitki DNA'larının izole edilmesinde, Biogene firmasına ait DNA ekstraksiyon kitinden faydalanılmıştır. Her bir türü temsil edecek sayıda bitki numunesinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Herbaryum örneği haline getirilmiş türlerin yaprakları kullanılarak bir havan içersine 350 ml lysis eklenerek öğütülmüştür. Öğütülen bitki tozu 350 µL Lysis Buffer A içeren 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 10-20 saniye vortekslenmiştir. Üzerine 50 µL Lysis Buffer B ve 20 µL RNase A eklenmiştir. Örnek tüpleri vortekslenerek 65 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. 130 µL Çökeltme Solüsyonu eklenmiş, tüpler 2-3 kez karıştırılmış ve 5 dakika buz üzerinde inkübe edilmiştir. Tüpler ≥ 20.000 'g'de (≥ 14.000 rpm) 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantı (genellikle 450-550 µL) alarak temiz mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. 400 µL Bitki gDNA Bağlama Solüsyonu ve 400 µL % 96 etanol eklenerek iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımın yarısı (600-700 µL) tüplere aktarılmıştır. Örnekler 6.000 g'de (~ 8.000 rpm) 1 dakika santrifüjlenerek Akışkan solüsyonunun içinden artıklar atılmış ve kalan karışım aynı tüplere uygulanmıştır. Tüpler 6.000 g'de (~ 8.000 rpm) 1 dakika santrifüjlenmiştir. Tüplere 500 µL Yıkama Tamponu I eklenmiştir (Yıkama Tamponu I'e etanolün eklendiğinden emin olun). 8.000 g (~ 10.000 rpm) hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir. Akışkan kısmı atılmış ve column toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir. Tüplere 500 µL Yıkama Tamponu II eklenmiştir. Örnekler maksimum 20.000'g (≥ 14.000 rpm) hızında 3 dakika santrifüjlenmiştir. Akış çözeltilisini içeren toplama tüpünden süpernatant kısmı atılmış ve üst faz alınarak steril 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Genomik DNA izole etmek için, tüpe 100 µL Elüsyon Tamponu eklenmiştir, oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiş ve 8,000'g (~ 10.000 rpm) hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir. 100 µL Elüsyon Tamponu kullanılarak

ikinci bir elüsyon adımı gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde DNA izole edilmiş olup - 20°C'de saklanabilecek şekilde hazırlanmıştır.

3.2.2.2. ITS bölgesinin PCR ile çoğaltılması ve agaroz jelde elektroforez

İzolasyonu yapılan ribozomal DNA'nın ITS bölgesinin çoğaltılması için üniversal ITS4 -(5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ve ITS5 (5'- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAG G - 3') primerleri kullanılmıştır. Bu primerler yardımıyla, rDNA'da yer alan ITS1, 5.8S ve ITS2 bölgeleri PCR yoluyla çoğaltılmıştır. Çift zincirli DNA üzerinden bu bölgelerin çoğaltılması 200 µl'lik tüplerde; 10X'lik reaksiyon tamponundan 12.5 µl, MgCl₂'den 7.5 µl, dNTP'den 2.5 µl, her bir primerden 2.5 µl, Taq DNA polimeraz enziminden (Promega) 1 µl, ve genomik DNA'dan 5 µl içeren karışım 840 µl distile su ile son hacme tamamlanarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan PCR karışımına, aşağıda verilen sıcaklık döngüsü 36 termal döngü şeklinde uygulanmıştır (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3. 2. *Astragalus* L. cinsine ait türlerin PCR ile araştırılması ve sıcaklık döngüleri

| | |
|--|-------------------|
| 94 °C'de2 dk DNA çift zincirinin ayrılması | } Toplam 36 döngü |
| 94 °C'de..... 1 dk DNA çift zincirinin ayrılması | |
| 55 °C'de.....1 dk primerlerin bağlanması | |
| 72 °C'de.....2 dk DNA sentezi | |
| 72 °C'de 10 dk son uzama | |

PCR uygulamaları Eppendorf MaterCycler cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR sonrası elde edilen ürünler %1.5'lük agaroz jelde koşturulmuş, elektroforez işlemi sonunda elde edilen jel uygun bir kap içerisinde 100 ml steril saf su ve 30µl EtBr (0.5 µg/ml) solüsyonunda 20 dakika süreyle sallayıcı platform üzerinde boyanmıştır (Sambrook ve ark., 1989). Boyanan DNA'yı görünür hale getirmek amacı ile jel görüntüleme ve analiz sisteminde görüntülenmiştir.

3.2.2.3. DNA dizilemesinin gerçekleştirilmesi

Moleküler alışmalar sonrası saflaştırılan DNA üzerindeki her taksona ait ITS bölgelerinin DNA yeni nesil dizilemesi Sentebiolab A.ř. 'ye yaptırılmıştır.

3.2.2.4. Filogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi ve DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi

DNA dizilemesi yapılan *Astragalus* türlerine ait genom bilgileri farklı programlar (Snapgene, CLC DNA workbench) ile analiz edilmiştir. Belirtilen tüm programlar çalışmada kullanılmıştır. Çalışmada her programın farklı bir özelliğinden yararlanmıştır. *Astragalus* L. cinsinin farklı türlerine ait elde edilen DNA dizileri, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen bankasına kayıtları yapılarak dünyadaki tüm araştırıcıların kullanımına sunulmuştur.

4. BULGULAR

4.1 Van Gölü Havzası'n dan toplanan *Astragalus* L. cinsine ait türlerin teşhis edilmesi

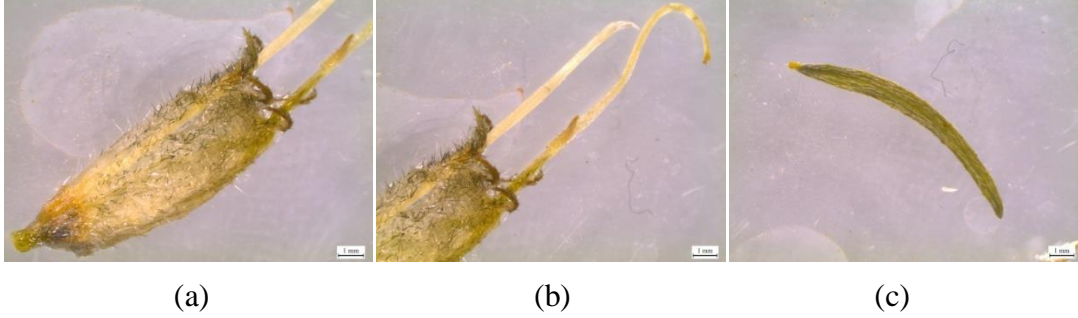
Yapılan arazi çalışmalarında herbir bitki türünü temsil edecek şekilde her türden üç tane örnek toplamış, preslenipkurutulmuş ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Herboloji laboratuvarında mevcut binoküler aracılığıyla teşhis edilmiştir. Teşhis edilen taksonlar Hakkari Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu'nda görevli Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer Mükemre tarafından teyit edilmiştir. Teşhis edilen türler şunlardır;

- ✓ *Astragalus cinerous* Willd. (Van-Çatak), 1
- ✓ *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* (Freyn & Sint) Freyn & Bornm (Van-Bahçesaray), 2
- ✓ *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews (Van-Bahçesaray), 3
- ✓ *Astragalus sachanewii* Sirj.(Van-Bahçesaray), 4
- ✓ *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews(Van-Görentaş), 6
- ✓ *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F. (Van-Yapılı Köy), 7
- ✓ *Astragalus longifolius* Lam. (Van-Bahçesaray), 8
- ✓ *Astragalus tauricolus* Boiss. (Van-Gürpınar), 9
- ✓ *Astragalus gevashensis* Chamb.& Matthews (Van-İnköy), 10
- ✓ *Astragalus gymnalopecias* Rech. Fil.(Van-Yapılı köy çıkışı), 11
- ✓ *Astragalus pendulus* D.C.(Van-Çatak), 12
- ✓ *Astragalus lycius* Boiss. (Van-Hoşap Üçgen Köy), 13
- ✓ *Astragalus tournefortii* Boiss. (Van-Çatak Atlıhan Köyü), 14
- ✓ *Astragalus comosoides* Chamb. & Matthews (Van-Çatak Kanalga Köyü Tanrıverdi Mezrası), 16
- ✓ *Astragalus bashkalensis* Chamb.(Van- Güzeldere Geçidi bakım evi çevresi), 17
- ✓ *Astragalus pulchellus* Boiss. (Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıda), 18

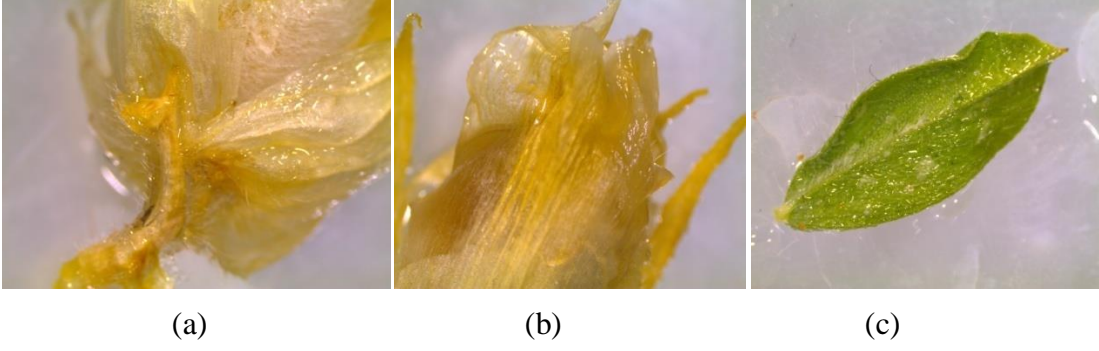
- ✓ *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *Xylobasis*(Van-Bahçesaray Kerpit Geçidi arası), 19
- ✓ *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech(Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıda), 20
- ✓ *Astragalus cryptocarpus* D.C.(Van-Çatak), 21
- ✓ *Astragalus hareftae* (Nab.) Sirj. (Van'dan Görentaşa doğru Görentaş girişi), 22
- ✓ *Astragalus bicolor* Lam. (Van- Güzeldere çıkışı), 24



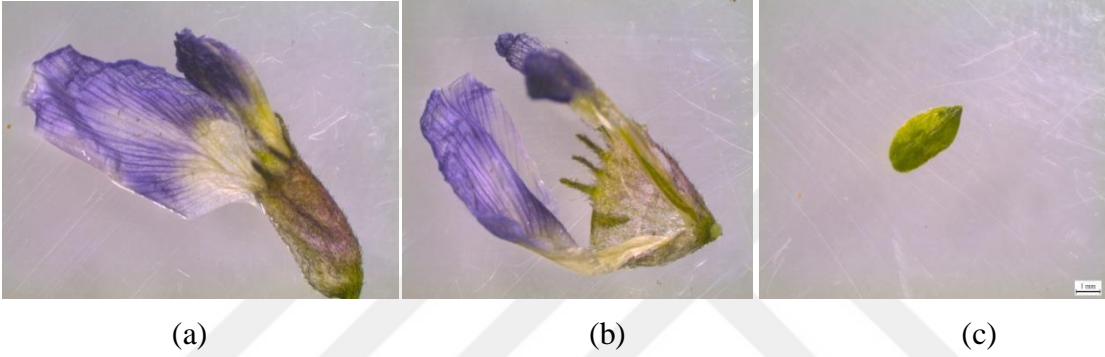
Şekil 4.1. *Astragalus cinerous* Willd.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskobik).



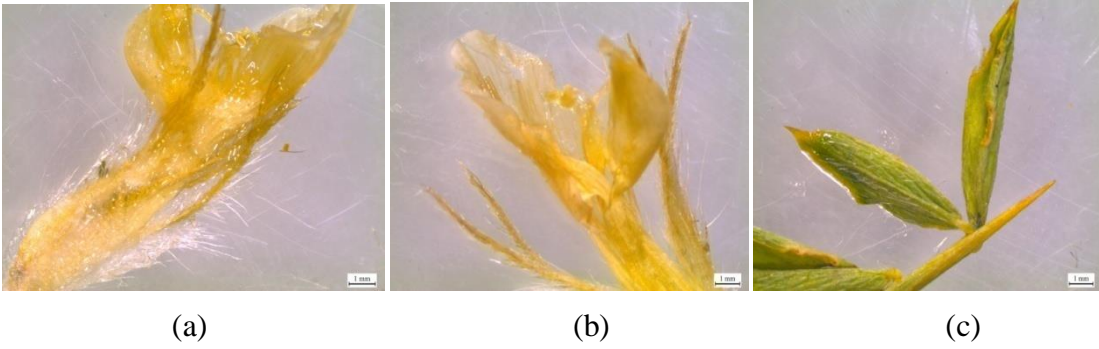
Şekil 4.2. *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus*'a ait çiçek(a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskobik).



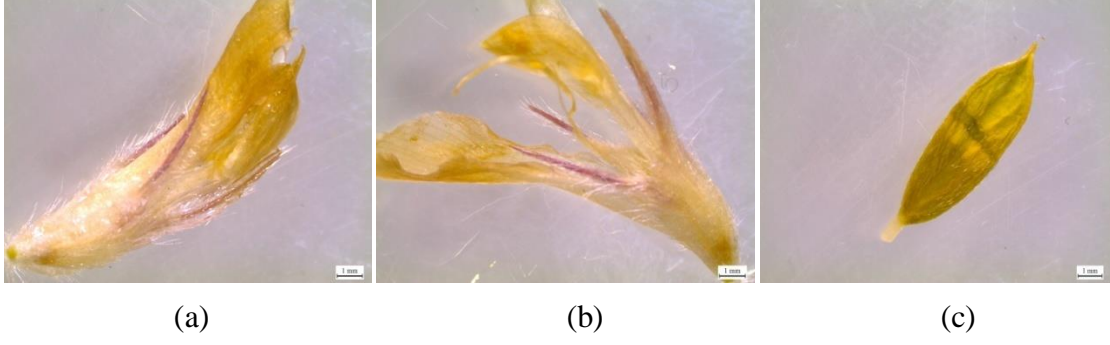
Şekil 4.3. *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews' e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü (mikroskopik).



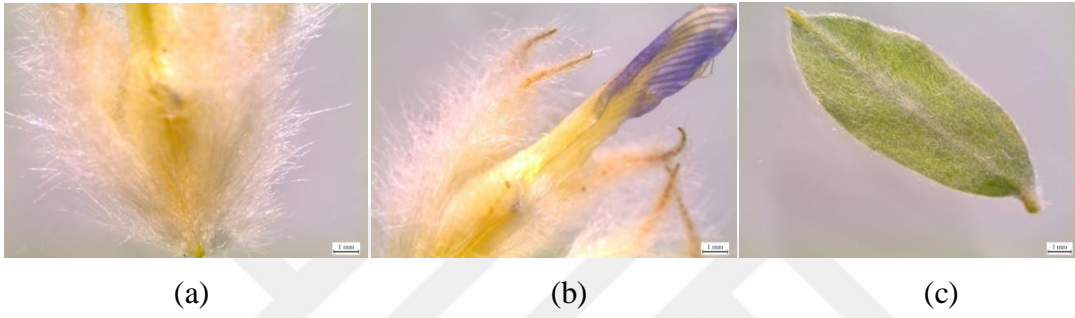
Şekil 4.4. *Astragalus sachanewii* Sirj.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



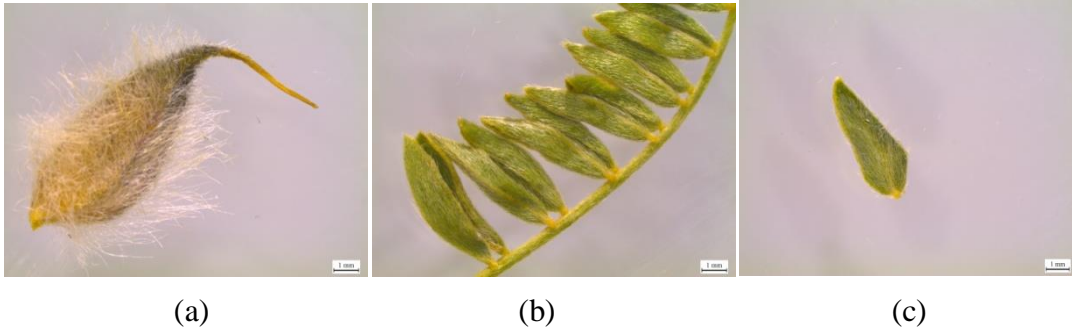
Şekil 4.5. *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



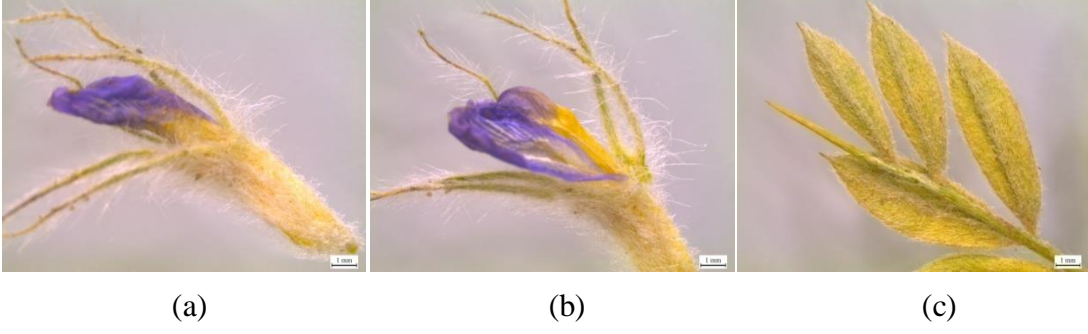
Şekil 4.6. *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



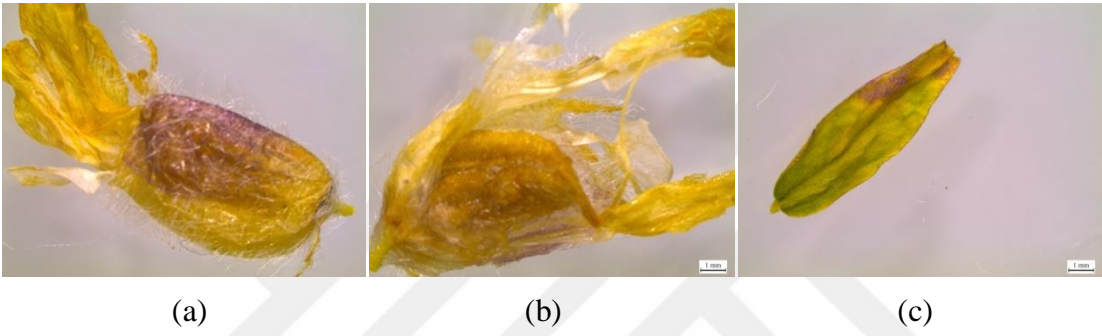
Şekil 4.7. *Astragalus longifolius* Lam.'a ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



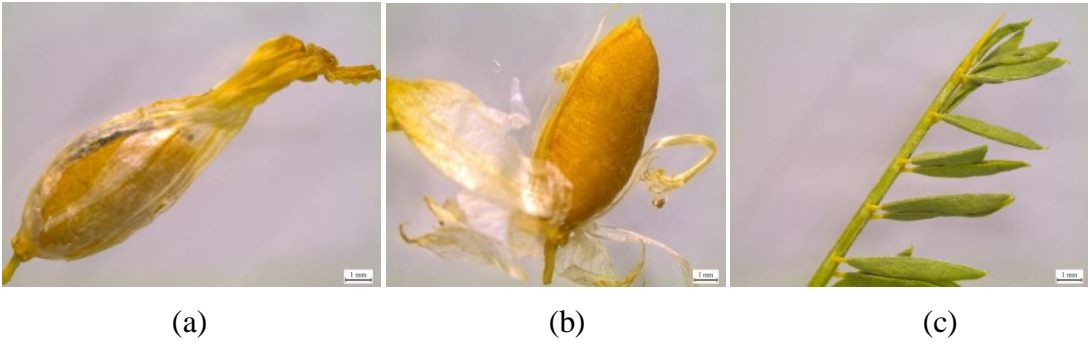
Şekil 4.8. *Astragalus tauricolus* Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü(mikroskopik).



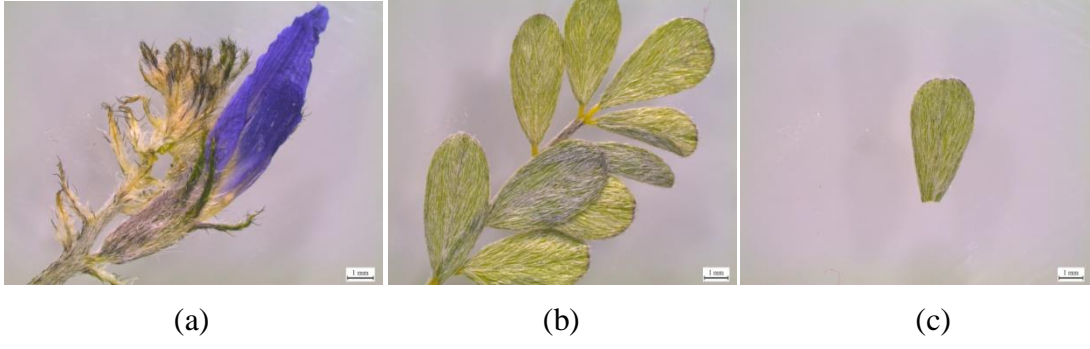
Şekil 4.9. *Astragalus gevaschensis* Chamb. & Matthews'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



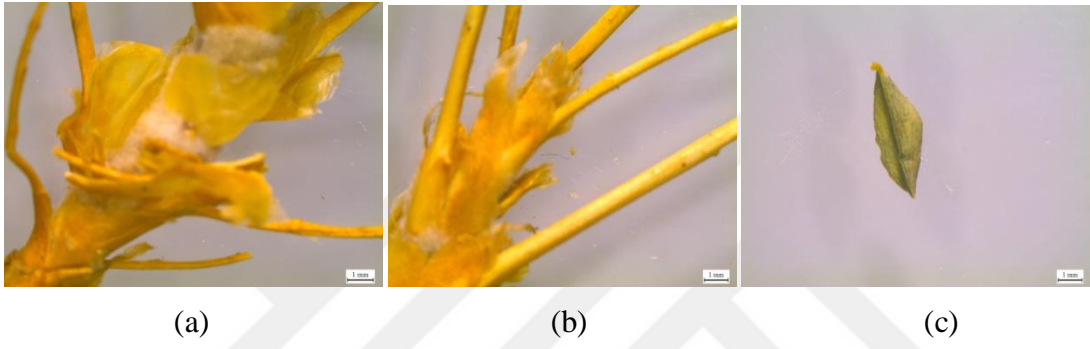
Şekil 4.10. *Astragalus gymnalopecias* Rech. Fil'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.11. *Astragalus pendulus* D.C'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



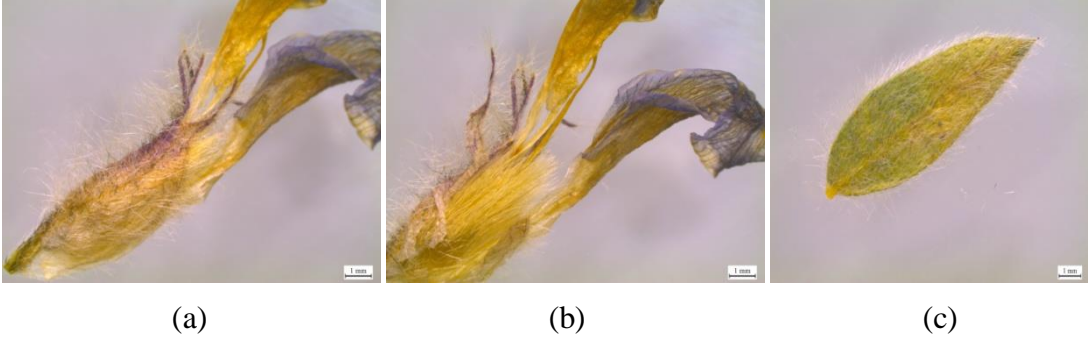
Şekil 4.12. *Astragalus lycius* Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü(mikroskopik).



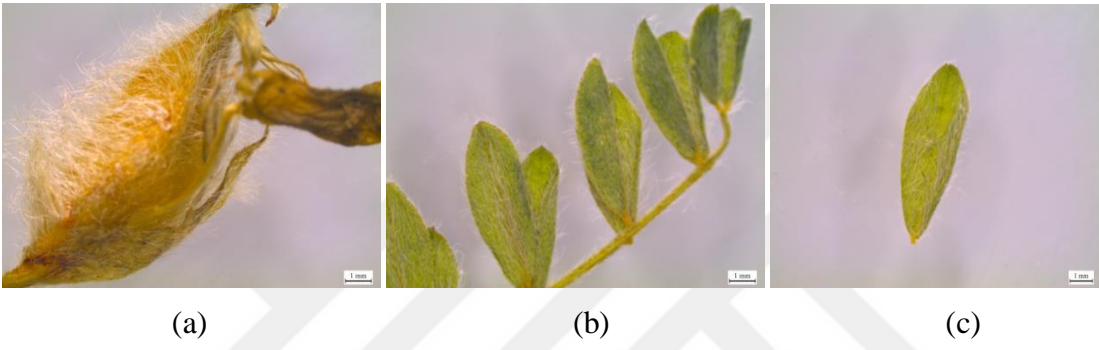
Şekil 4.13. *Astragalus tournefortii* Boiss.'e ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.14. *Astragalus comosoides* Chamb.& Matthews'e ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.15. *Astragalus bashkalensis* Chamb.'a ait çiçek (a,b) ve yaprak (c) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.16. *Astragalus pulchellus* Boiss.'e ait çiçek (a) ve yaprak (b,c) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.17. *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis*'a ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).



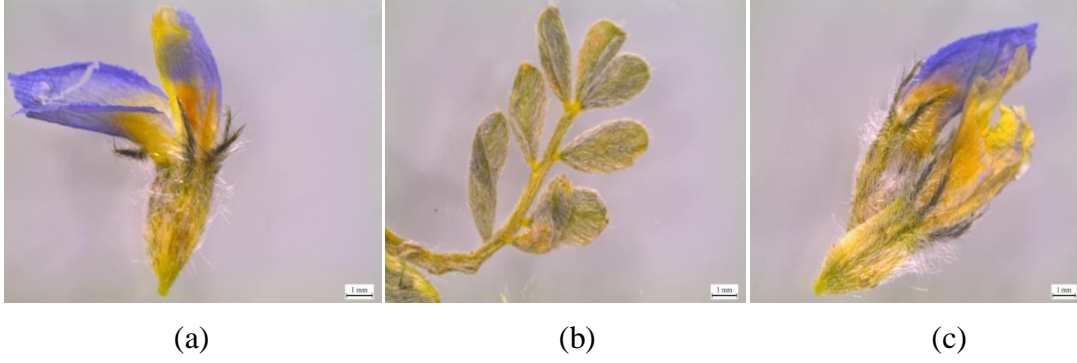
Şekil 4.18. *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech'e ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.19. *Astragalus cryptocarpus* D.C.'a ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).



Şekil 4.20. *Astragalus hareftae* (Nab.) Sirj.' ait çiçek (a) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).



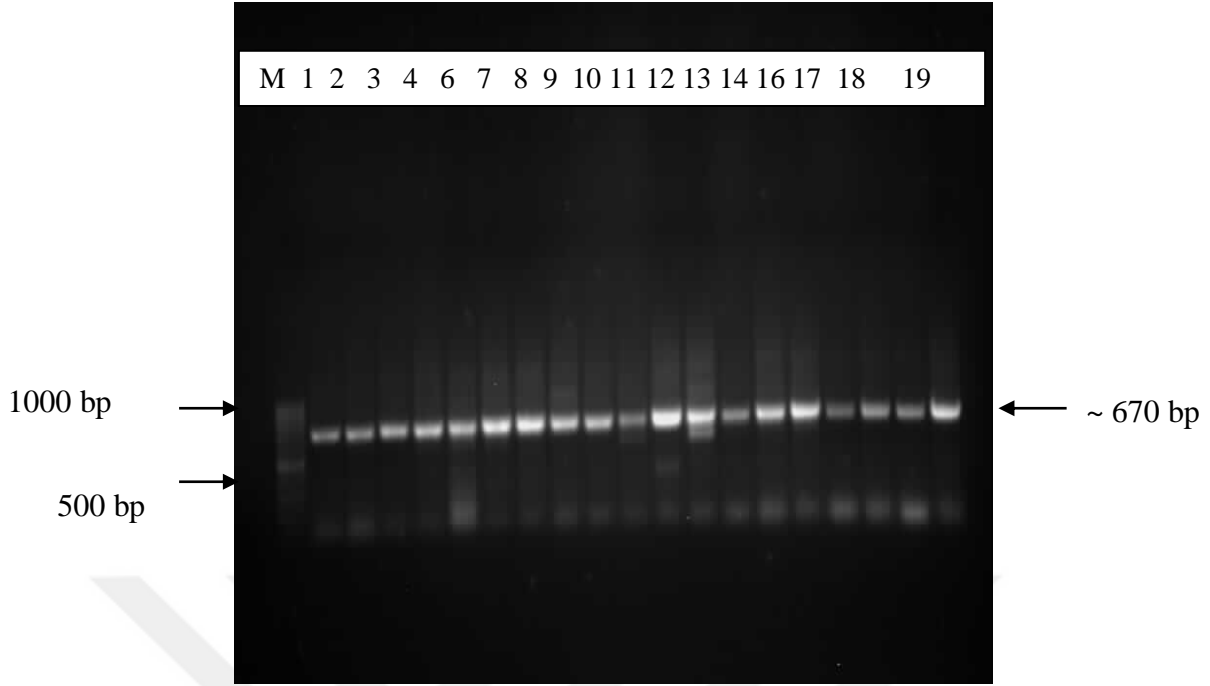
Şekil 4.21. *Astragalus bicolor* Lam'a ait çiçek (a,c) ve yaprak (b) görünümü(mikroskopik).

4.2. *Astragalus* L. Cinsine Ait Endemik Türlerin Filogenetik İlişkilerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması

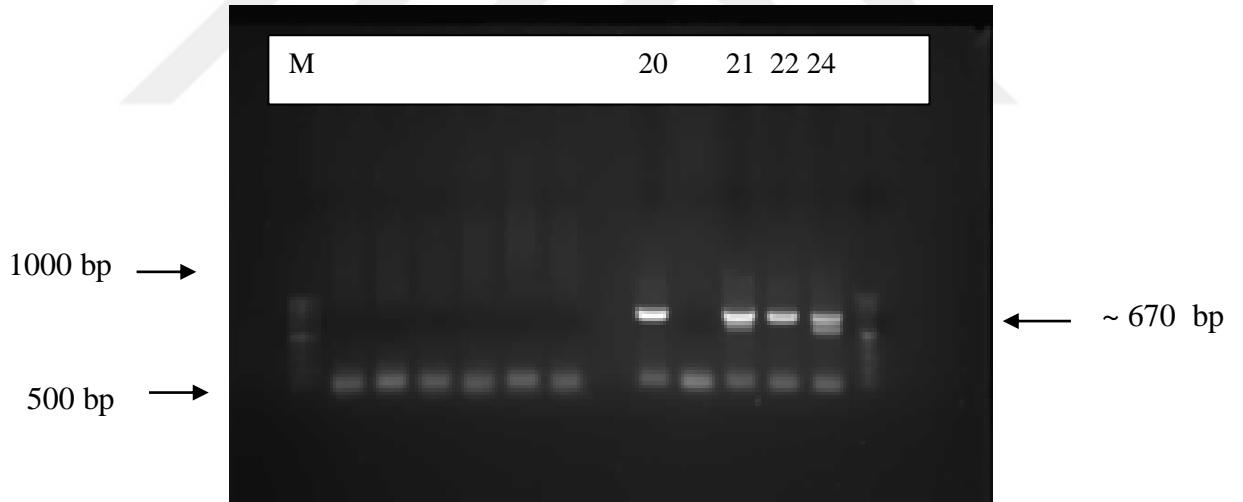
- 1) ITS bölgesinin PCR ile çoğaltılması ve elektroforez,
- 2) DNA dizilemesinin gerçekleştirilmesi,

4.2.1. ITS bölgesinin PCR ile çoğaltılması ve elektroforez

ITS bölgesi çoğaltılan *Astragalus* L. cinsine ait endemik türlerin DNA'sını görüntülemek amacıyla jel görüntüleme yapılmış ve *Astragalus cinerous* Willd., *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* (Freyn & Sint) Freyn & Bornm, *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews, *Astragalus sachanewii* Sirj., *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews, *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F., *Astragalus longifolius* Lam., *Astragalus tauricolus* Boiss., *Astragalus gevashensis* Chamb.& Matthews, *Astragalus gymnalopencias* Rech. Fil., *Astragalus pendulus* D.C., *Astragalus lycius* Boiss., *Astragalus tournefortii* Boiss., *Astragalus comosoides* Chamb.& Matthews, *Astragalus bashkalensis* Chamb., *Astragalus pulchellus* Boiss., *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis*, *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech, *Astragalus cryptocarpus* D.C., *Astragalus hareftae* (Nab.) Sirj., *Astragalus bicolor* Lam. adlı türlere ait ITS bölgelerinin PCR ürünleri yaklaşık 670 bp uzunluğunda fragment vermiştir (Şekil 4.22 ve Şekil 4. 23).



Şekil 4.22. *Astragalus* L. cinsine ait türlerin ITS bölgelerinin PCR ürünleri. M:Marker, 1-19 nolu örnekler.



Şekil 4.23. *Astragalus* L.cinsine ait türlerin ITS bölgelerinin PCR ürünleri. M:Marker, 20-24 nolu örnekler.

PCR ürünleri İontek firması tarafından yapılan DNA dizilemesi sonrası BLAST analizine tabi tutulmuştur. BLAST analizi sonucuna göre tüm örneklerin *Astragalus* L. cinsine ait olduğu ortaya çıkmıştır.

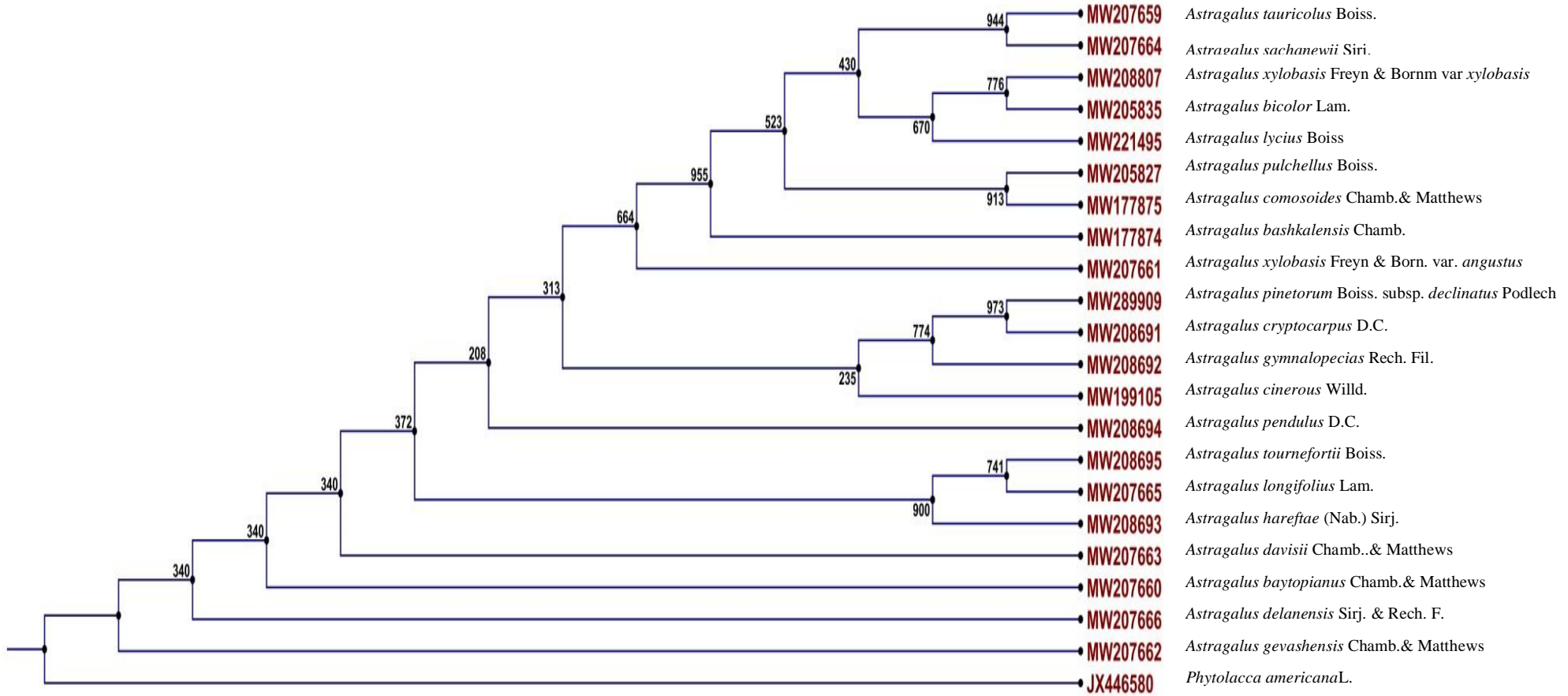
4.2.2. Filogenetik analizlerin gerekleřtirilmesive DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi

DNA dizilemesi yapılan *Astragalus* türlerine ait filogenetik analizler Snapgene, CLC DNA workbench ile analizleri yapıldıktan sonra izolatların National Center for Biotechnology Information (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Gen bankasına kayıtları yapılmıştır. Gen bankasına girişi yapılan baz dizilerine ait ulaşım numaraları (accession number) izelge 4.1.'de verilmiştir.



Çizelge 4.1. *Astragalus* L. cinsine ait türler, örnek numaraları, toplandıkları lokasyonlar, baz uzunlukları ve Gen Bankası ulaşım numaraları.

| Örnek Numarası | <i>Astragalus</i> Cinsine Ait türler | Lokasyonlar | Baz Uzunluğu (bp) | Gen Bankası Ulaşım Numarası |
|----------------|---|--------------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| 1 | <i>Astragalus cinerous</i> Willd. | Van-Çatak | 686bp | MW199105 |
| 2 | <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Born. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint) Freyn & Bornm | Van-Bahçesaray | 687bp | MW207661 |
| 3 | <i>Astragalus davisii</i> Chamb.& Matthews | Van-Bahçesaray | 686bp | MW207663 |
| 4 | <i>Astragalus sachanewii</i> Sirj. | Van-Bahçesaray | 686bp | MW207664 |
| 6 | <i>Astragalus baytopianus</i> Chamb.& Matthews | Van-Görentaş | 687bp | MW207660 |
| 7 | <i>Astragalus delanensis</i> Sirj. & Rech. F. | Van-Yapılı Köy | 687bp | MW207666 |
| 8 | <i>Astragalus longifolius</i> Lam. | Van-Bahçesaray | 686bp | MW207665 |
| 9 | <i>Astragalus tauricolus</i> Boiss | Van-Gürpınar | 686bp | MW207659 |
| 10 | <i>Astragalus gevashensis</i> Chamb.& Matthews | Van- İnköy | 687bp | MW207662 |
| 11 | <i>Astragalus gymnalopecias</i> Rech. Fil. | Van-Yapılı köy | 686bp | MW208692 |
| 12 | <i>Astragalus pendulus</i> D.C. | Van-Çatak | 686bp | MW208694 |
| 13 | <i>Astragalus lycius</i> Boiss. | Van-Hoşap Üçgen Köy | 686bp | MW221495 |
| 14 | <i>Astragalus tournefortii</i> Boiss. | Van-Çatak Atlıhan köyü | 686bp | MW208695 |
| 16 | <i>Astragalus comosoides</i> Chamb.& Matthews | Van-Çatak Kanalga köyü | 686bp | MW177875 |
| 17 | <i>Astragalus bashkalensis</i> Chamb. | Van-Güzeldere Geçidi | 687bp | MW177874 |
| 18 | <i>Astragalus pulchellus</i> Boiss. | Van-Güzeldere Geçidi | 686bp | MW205827 |
| 19 | <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm var <i>xylobasis</i> Freyn & Born | Van-Bahçesarayla Kerpit Geçidi arası | 687bp | MW208807 |
| 20 | <i>Astragalus pinetorum</i> Boiss. subsp. <i>declinatus</i> Podlech | Van-Güzeldere Geçidi | 669bp | MW289909 |
| 21 | <i>Astragalus cryptocarpus</i> D.C. | Van-Çatak | 674bp | MW208691 |
| 22 | <i>Astragalus hareftae</i> (Nab) Sirj. | Van- Görentaş | 686bp | MW208693 |
| 24 | <i>Astragalus bicolor</i> Lam. | Van- Güzeldere çıkışı | 687bp | MW205835 |



Şekil 4.24. *Astragalus* L.cinsine ait endemik türlerin CLC DNA Workbench programıyla elde edilen filogenetik ağacı.

Şekil 4.24'te ki filogenetik ağaç incelendiğinde; *A. tauricolus* ve *A. sachanewii* adlı endemik türlerin birbirlerine en yakın türler olduğu ortaya çıkmıştır. Filogenetik ağacın aynı dalında yer alan ve endemik tür olan *A. xylobasis* var *xylobasis* ile nadir tür olan *A. bicolor*'un birbirine en yakın türler olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde *A. pulchellus* ve *A. comosoides* adlı türlerin birbirlerine çok yakın oldukları belirlenmiştir. Filogenetik ağacın aynı dalında yer alan *A. pinetorum* subsp. *declinatus* ile *A. cryptocarpus* adlı türlerin birbirine yakın olduğu bulunmuştur. Filogenetik ağaçta yer alan *A. tournefortii* ile *A. longifolius*'un birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Filogenetik ağacın farklı dallarında yer alan *A. lycius*, *A. bashkalensis*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. gymnalopecias*, *A. cinerous*, *A. pendulus*, *A. hareftae*, *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. delanensis*, *A. gevashensis* adlı türlerin ise birbirlerine yakın olmadıkları ve filogenetik ağacın farklı dallarında yer aldığı belirlenmiştir. Çalışmada dış grup oluşturması amacıyla, ulaşım numarası JX6580 olan *Phytolacca americana* L. adlı dış grup olan bir bitki türü kullanılmıştır.

4.2.3. Dizi Analizleri ve İkincil Yapıların tespit edilmesi

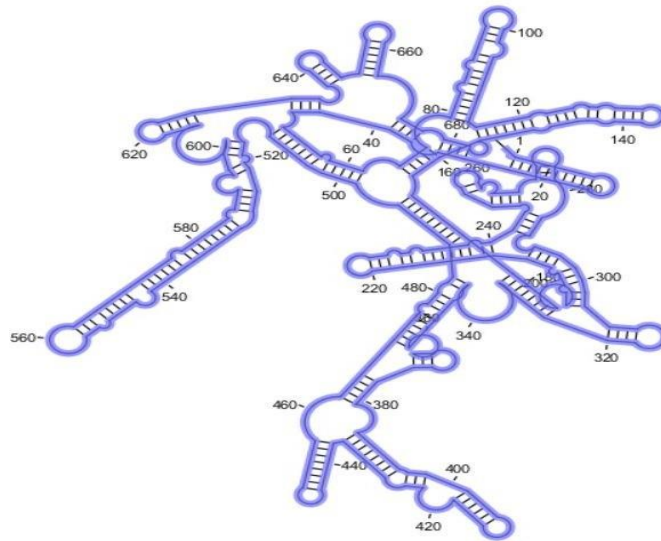
Teşhis edilen türlere ait rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizileri belirlenmiş ve CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak türlerin rRNA'sına ait ikincil yapılar oluşturulmuştur.

Van'ın Kızıltepe ilçesinden Çatak'a doğru 4 km mesafeden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW199105 olarak kaydedilen 1 numaralı *Astragalus cinerous* Willd.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Bir numaralı *Astragalus cinerous* Willd. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|---|
| TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGGG ATGGCAGAGTGTCTGCACCACGGCTCCCTTTGGGCAGGAGGTGGCACGCACAGCGTTCCCTCATGCCGAACACAAAC CCCGCGTTCAATGCGCCAAGGAACATAAATTCGATCAATGCTCCCGTCGGCCCGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCTT GTCACATGATACAGAATGACTCTCGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGATTCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC TGGGCGTCACATATCGTTGCCTGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCGTGAGCGTTG TTGCCTCGCGTTGGTTGAAAATTGAGACCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATCA TGTGCATGCCCCCAAAATATGGCCTCTACGACCCACATGTGTCTTTGACACTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *A. cinerous* adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.25'te görülmektedir.



Şekil 4.25. *Astragalus cinerous* Willd.'ün rDNA dizisine ait ikincil yapısı.

İkincil yapı incelendiğinde çok sayıda saç tokası (hair pin) şeklinde bir dallanma sergilediği görülmektedir.

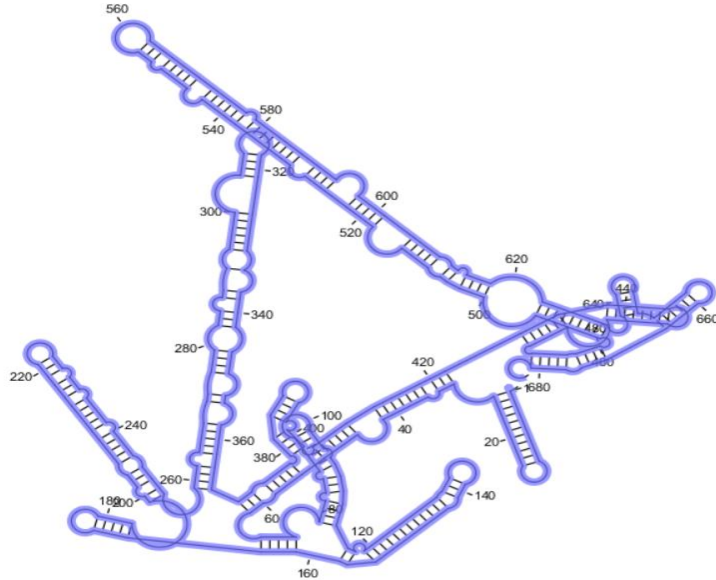
Van'ın Bahçesaray ile Kerpit geçidi arasından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207661 olarak kaydedilen 2 numaralı *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* 'a ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. İki numaralı *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCAATGCGTCCCCCTCTTGCTGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCAAGGAACTAAAATTCGATCAATGCGCCCCGTCCGCCCGGAGACGGTGTGTGGCGGTGGTGCTT
TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCAGTCTGC
CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTACTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTA
GTTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCTTGGTAGGGTGTGCCATGGTAGATGGTGGTTCGAGTTAGAACGATACCGATC
ATGTGCATGCTCCCCAAAATATGGCTTCTACGACCACACGCGTCTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.26'da görülmektedir.



Şekil 4.26. *Astragalus xylobasis* Freyn & Born. var. *angustus* adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

A. xylobasis var. *angustus* rRNA dizisine ait ikincil yapı incelendiğinde bir önceki türden daha az sayıda saç tokası (hair pin) şeklinde bir dallanma sergilediği görülmektedir. Kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*'tan ayırt edilebilmektedir.

Van'ın Bahçesaray ile Kerpit geçidi arasından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207663 olarak kaydedilen³ numaralı *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Üç numaralı *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|--|
| TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGGG ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGAGCTACTGCGTCCCCTCATGCCCGAACACAAAC CCC GGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTAGATCAATGCGCCCCGTCGCCCCGGAGACGGTGTGGCGGGCGGTGCCTT GTCACATGATACAGAATGACTCTCGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCACTGCAATAGGAATTTT TAGGGCGAATGATGGCTTCCC GTGAGCGTTGT TGCTCGCGGTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGCAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTCGAGTTAGGACGATACCGATCAT GTGATTCTCCCAAGATATGGCTCTATGACCCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGCT ACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.27'de görülmektedir.



Şekil 4.27. *Astragalus davisii* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

A. davisii'in rRNA dizisine ait ikincil yapısı incelendiğinde önceki türlerden az sayıdaki saç tokası (hair pin) şeklinde dallanma özelliği ile farklılık göstermektedir. Kendine

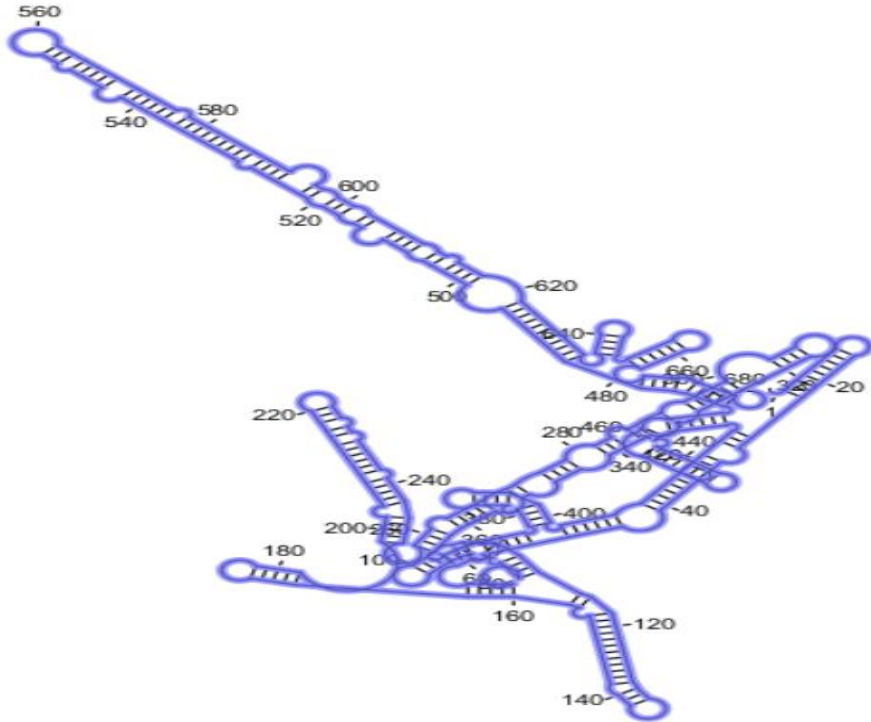
özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerosus* ve *A. xylobasis* var. *angustus*'tan ayırt edilebilmektedir.

Van'ın Bahçesaray ile Kerpit geçidi arasından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207664 olarak kaydedilen 4 numaralı *Astragalus sachanewii* Sirj.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5.Dört numaralı *Astragalus sachanewii* Sirj. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|---|
| TTCCGTTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGGG ATGGCACGGGTGTTGGCACCACGACCTCCCTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCAGTGCCTCCCTCTTGCCTGAACACAAAC CCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACATAAAATTCGATAAAATGCGCCCCGTCGCCCCGAGACGGTGTCTCGGCGGTGGTGCCTT GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC TGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTG TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTGCAGTTAGCACGATACCGATCA TGTGCATGCTCTCCGAAAATGGCTCTATGACCCACACGCGTCTTTTACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC TACCCGCTGAATTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus sachanewii* Sirj. adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.28.'de görülmektedir.



Şekil 4.28.*Astragalus sachanewii* Sirj. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

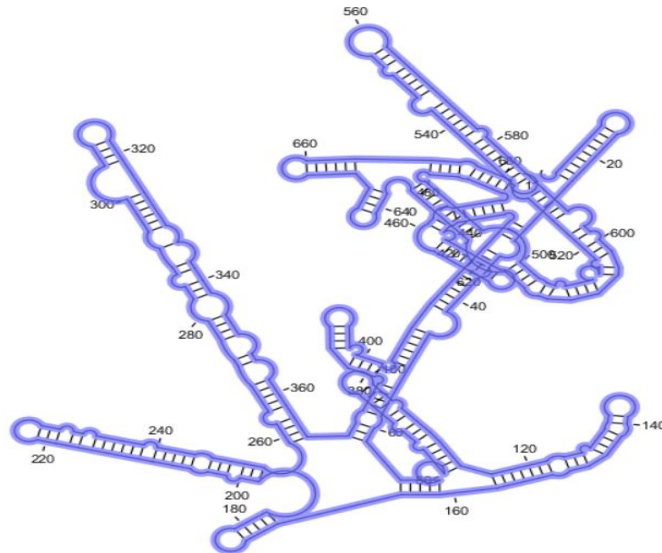
A. sachanewii'nin rRNA dizisine ait ikincil yapı incelendiğinde oluşturduğu iki ana dal ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Bu türün CLC DNA workbench programı ile oluşturulan kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus* ve *A. davisii* 'den ayırt edilebildiği görülmektedir.

Van'dan Görentaş'a doğru Görentaş girişinden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207660 olarak kaydedilen 6 numaralı *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews'e ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4. 6. Altı numaralı *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|--|
| GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGAGCTCACTGCGTCCCCTCATGCCCGAACACAAA CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTTGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCT TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG GTGTGAATTGCAGAAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGTTGAGGGCAGCTCTGC CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCGTGAGCGTT GTTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGACGATACCGATC ATGTGCATGCCCCCAAGATATGGCCTCTATGACCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.29.'da görülmektedir.



Şekil 4.29. *Astragalus baytopianus* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

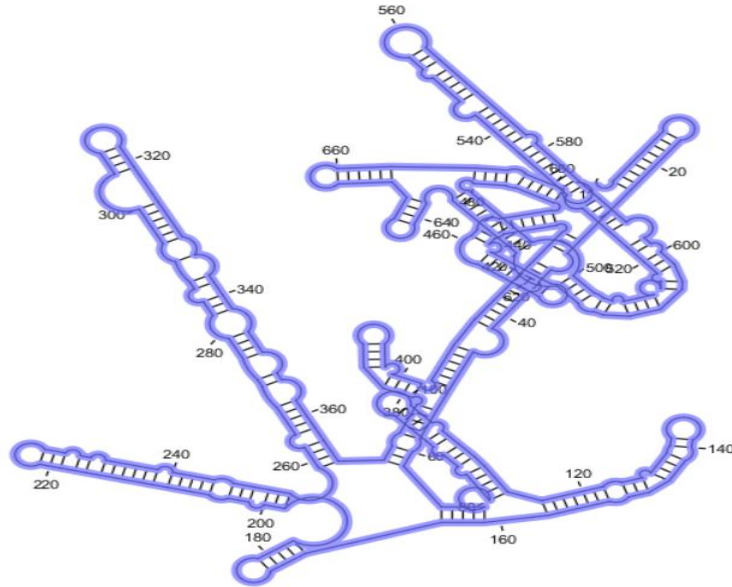
Van-Görentaş'tan alınan *A. baytopianus* rRNA dizisine ait ikincil yapı incelendiğinde oluşturduğu üç ana dal ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapı şekillerinden kesin biçimde ayrıldığı görülmektedir. Türün CLC workbench programı ile oluşturulan kendine özgü bu dallanma şekli ile *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve *A. davisii*'den ayırt edilebildiği görülmektedir.

Van Yapılı köyünden Bahçesaray'a doğru Yapılı köyünün çıkışından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207666 olarak kaydedilen 7 numaralı *Astragalus delanensis*'e ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Yedi numaralı *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|---|
| GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGAGCTCACTGCGTCCCCTCATGCCGAACACAAA CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTTGATCAATGCGCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCT TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGC CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTT GTTGCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGACGATACCGATC ATGTGCATGCCCCCAAGATATGGCCTCTATGACCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F.adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.30.'da görülmektedir.



Şekil 4.30. *Astragalus delanensis* Sirj. & Rech. F. adlı örneğin rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

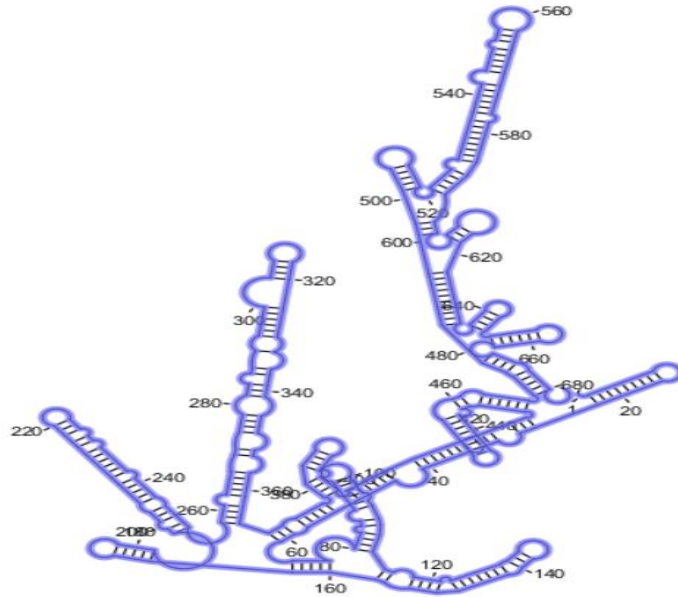
Yapılı Köy'ünden Bahçesaraya doğru yapılı Köy'ün çıkışından alınan *A. delanensis* rRNA dizisine ait ikincil yapı incelendiğinde, oluşturduğu ana dal sayısı ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapı şekillerinden 6 numaralı örnek olan ve Van-Görentaş'tan alınan *A. baytopianus* ile çok yakın olduğu görülmektedir.

Van'ın Bahçesaray ile Kerpit geçidi arasından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207665 olarak kaydedilen 8 numaralı *Astragalus longifolius* Lam.'a ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4. 8. Sekiz numaralı *Astragalus longifolius* Lam. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

| Nükleik Asit Baz Dizisi |
|---|
| TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGGG ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCACTGTGTCCCCTCATGCCTGAACACAAAC CCCGCGTTCAATGCGCCAAGGAATTAATAATTCGATCAATGCGCCCTGCCGCCCCGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCTT GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTGG TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCCTGAGCGTTG TTGCCTTGGCGTTGGTTGAAAATCGAGTCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGACGATACCGATCA TGTGCATGCTCCCAAGATATGGCTCTATGACCCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC |

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus longifolius* Lam. Adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.31.'de görülmektedir.



Şekil 4.31. *Astragalus longifolius* Lam. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

A. longifolius rRNA dizisine ait ikincil yapısı incelendiğinde oluşturduğu üç ana dal ve sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün CLC workbench programı ile oluşturulan kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii*, *A. delanensis*, *A. baytopianus* ve *A. davisii*'den ayırt edilebildiği görülmektedir.

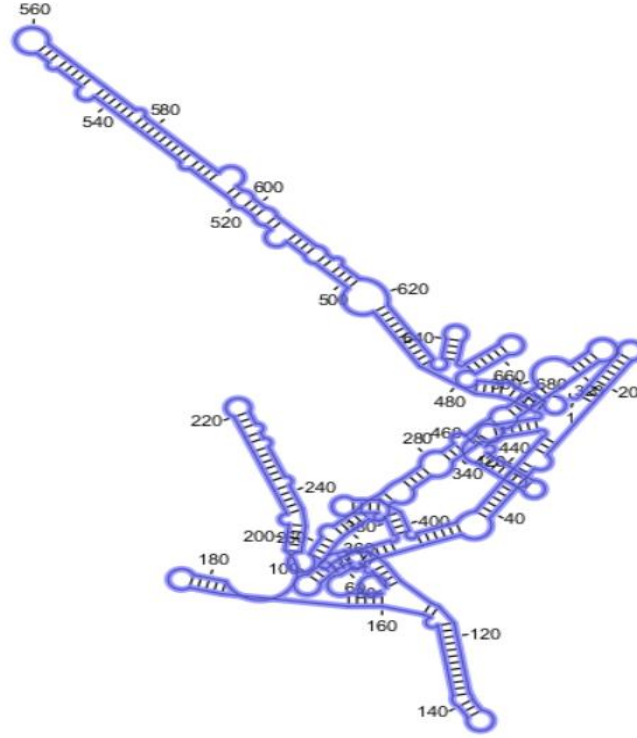
Van'ın Gürpınar ilçesine ait Cevizalan-Umut Köyleri arasındanalınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207659 olarak kaydedilen 9 numaralı *Astragalus tauricolus* Boiss.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4. 9. Dokuz numaralı *Astragalus tauricolus* Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTGGCACCACGACCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCAATGCGTCCCCCTCTGCCTGAACACAAAC
CCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACATAAAATTCGATAAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGCTCGGCGGTGGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCAGCTCTGCC
TGGGCGTACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTAAGCACGATACCGATCA
TGTGCATGCTCTCCGAAAAATGGCCTCTATGACCCACACGCGTCTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus tauricolus* Boiss.adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.32.'de görülmektedir.



Şekil 4.32. *Astragalus tauricolus* Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-GürpınarCevizalan-Umut Köyleri arasından toplanan *A. tauricolus*'in rRNA dizisine ait ikincil yapısı incelendiğinde oluşturduğu ana dal sayısı ve sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile 4 numaralı Van-Baheçesaray Kerpit geçidinden toplanan *A. sachanewii*'nin CLC workbench programı ile oluşturduğu ikincil yapıyla çok yakın olduğu görülmektedir.

Vanili Gevaş ilçesinde bulunan İnköy'den Altınsaç'a doğru girişte alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207662 olarak kaydedilen 10 numaralı *Astragalus gevashensis* Chamb.& Matthews'e ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4. 10. On numaralı *Astragalus gevashensis* Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

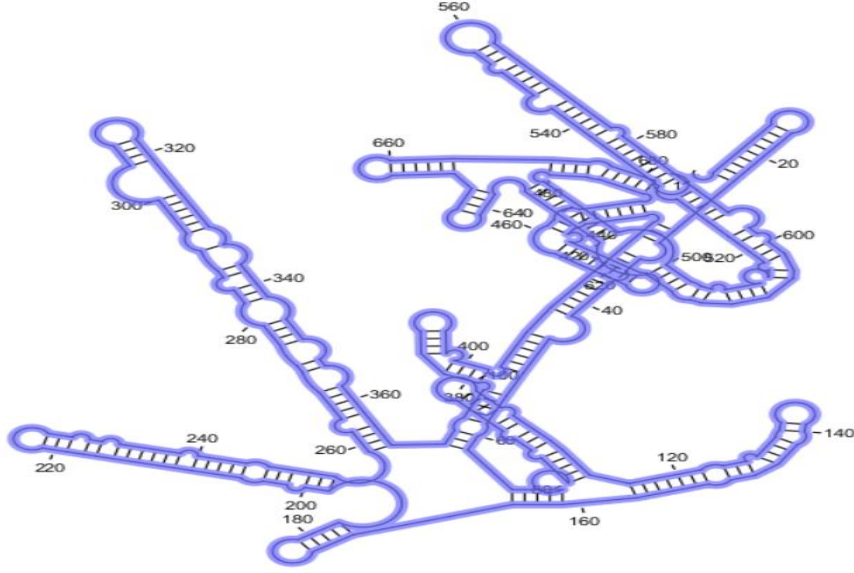
Nükleik Asit Baz Dizisi

```

GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGAGCTCACTGCGTCCCCTCATGCCGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTTGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCT
TGTACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGC
CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTT
GTTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGACGATACCGATC
ATGTGCATGCCCCCAAGATATGGCCTCTATGACCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTAAGCATATCAATAAGC

```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus gevasiensis* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.33.'te görülmektedir.



Şekil 4.33. *Astragalus gevasiensis* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-İnköyden Altınsaç'a girişten toplanan *A. gevasiensis*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde ana dal sayısı ve sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile Van'dan Görentaş'a doğru Görentaş girişinden toplanan 6 numaralı *A. baytopianus*'a ve Van-Yapılı Köy'ünden Bahçesaraya doğru Yapılı Köy'ün çıkışından toplanan *A. delanensis* Türlerine ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapılarla çok yakın olduğu belirlenmiştir.

Vanili Çatak ilçesinde bulunan Yukarı Narlıca köyünden Bahçesaray ilçesine doğru Yapılı köyün çıkışından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208692 olarak kaydedilen 11 numaralı *Astragalus gymnaopecias* Rech. Fil.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.11.).

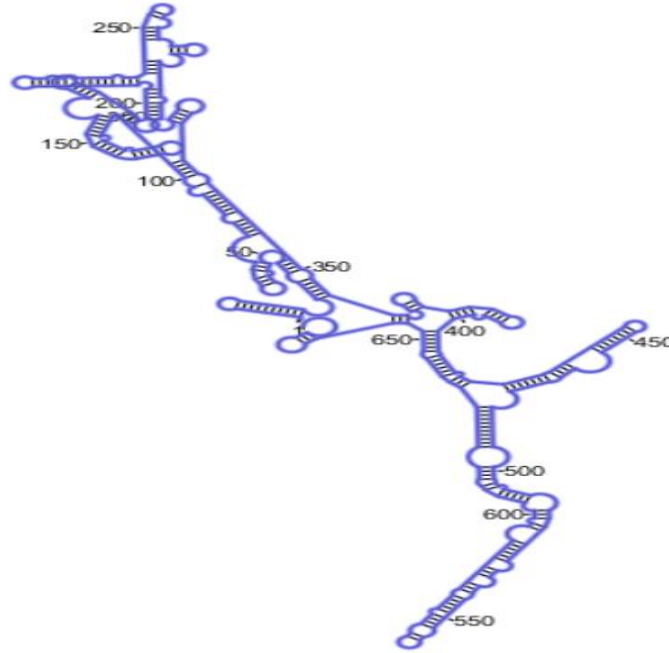
Çizelge 4. 11. On bir numaralı *Astragalus gymnaopecias* Rech. Fil. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```

TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACAAGCAAACCAACTAGTGAATCTGTTGAATACTTAGGG
ATGGCTGCAGTGTGTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTGGGAGGTGACGCGCAATGCGTCCCCCTCCTGCCCGAACACAAAC
CCCGGCGCTCAATGCGCCAAGGAACATAAATTCGATCAATGTGCCCTGTCGGCCCGAAGACGGTGTTCGGCGGTGGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGTGATAGGAACCTTTTAGGGCGAATGATGGCTCCCGTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTGGTTGAAATTTGAGTCCTTGGTGGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGAGACCAATCA
TGTGTAGGCTCCCATATAATATGGCCTCTATAACCCACATGCGTCTTTTGATGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
  
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus gymnaopecias* Rech. Fil. adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.34.'te görülmektedir.



Şekil 4.34. *Astragalus gymnaopecias* Rech. Fil. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van Yeninarlıca köyünden Bahçesaraya doğru yapılı köyün çıkışından toplanan 11 numaralı örnek olan *A. gymnaopecias*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu tek ana dal ve çok sayıda saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve

A. davisii, *A. baytopianus*, *A. delanensis*, *A. longifolius*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*'ten ayırt edilebildiği görülmektedir.

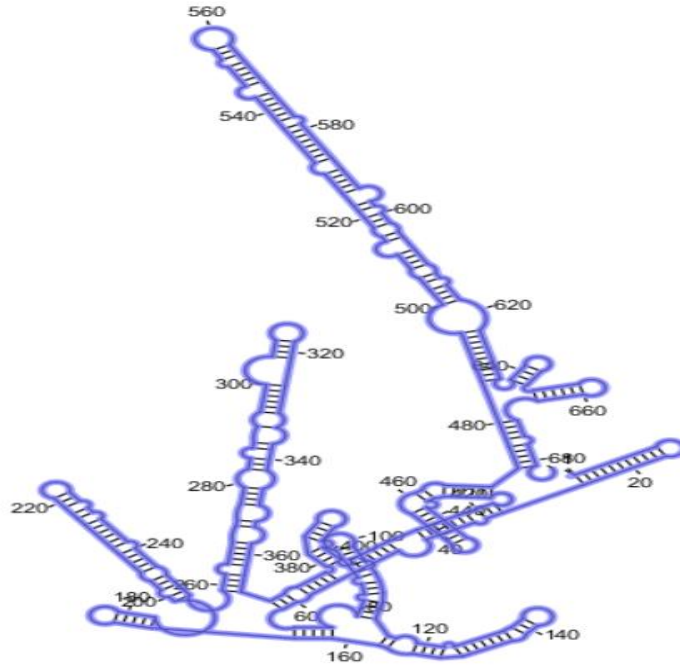
Van ili Çatak ilçesinde bulunan Yukarı Narlıca köyünün batısından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208694 olarak kaydedilen 12 numaralı *Astragalus pendulus* D.C.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4. 12. On iki numaralı *Astragalus pendulus* D.C.adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTGGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCACTGTGTCCCCTCATGCCTGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCAAGGAACTAAAATTTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCT
TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCAGCTCTGC
CTGGGCGTCCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAAGTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCGTGAGCGTT
GTTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATC
ATGTGCATGCTCCCAAGATATGGCTCTATGACCCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus pendulus* D.C.adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.35.'te görülmektedir.



Şekil 4.35. *Astragalus pendulus* D.C.adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-ÇatakYukarı Narlıca Köyünün batısından alınan ve örnek numarası 12 olan *A. pendulus*'a ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu üç ana dal ve önceki türlerden daha az sayıda sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii*, *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopezias*'den ayırt edilebildiği görülmektedir.

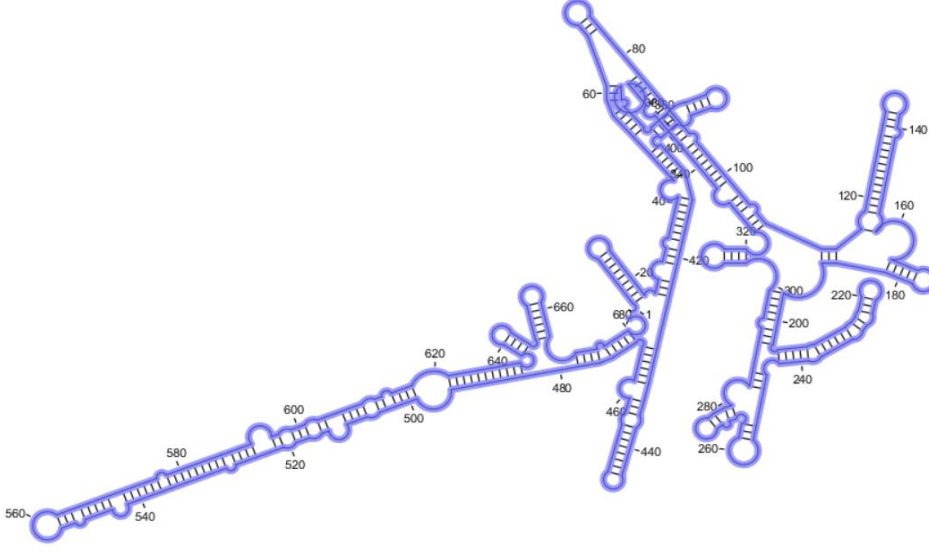
Van'ın Hoşap Üçgen köy'ünden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW221495 olarak kaydedilen 13 numaralı *Astragalus lycius* Boiss.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4. 13. On üç numaralı *Astragalus lycius* Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCCTGGGTAGGAGGGGGCGCGCAGTGCCTCCCCTCTTGCCTGAACACAAAC
CCCGCGTTCAATGCGCCAAGGAACATAAATTTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGCTCGGCGGTGGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCGATACCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCCTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATCA
TGTGCATGCTCTCCGAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGTCTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus lycius* Boiss. Adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.36.'da görülmektedir.



Şekil 4.36. *Astragalus lycius* Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Hoşap Üçgen Köy yolunun sonundan toplanan ve örnek numarası 13 olan *A. lycius*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu tek ana dal ve sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopecias*, *A. pendulus*'tan ayırt edilebildiği görülmektedir.

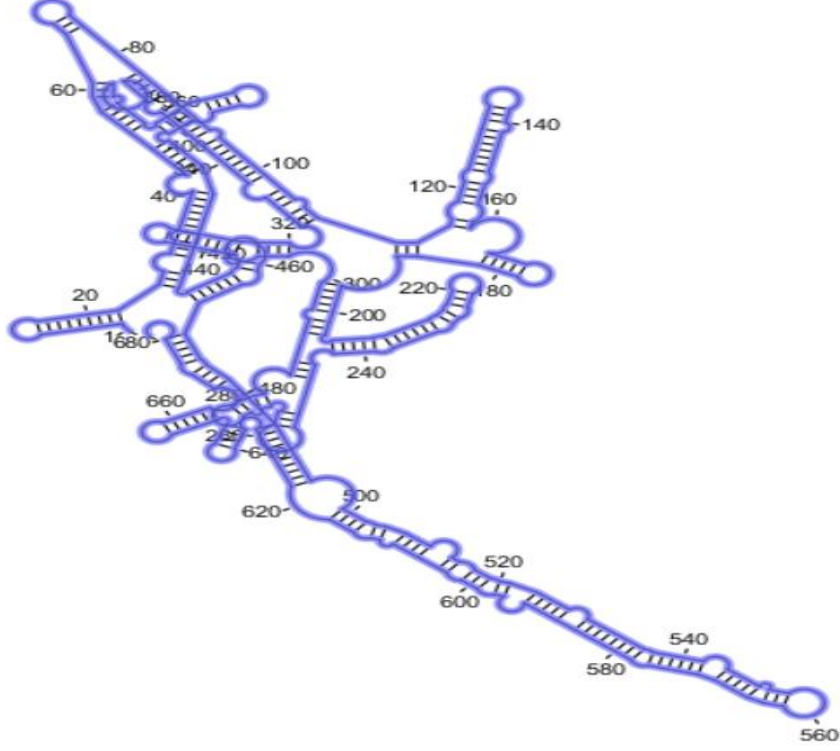
Van'ın Çatak ilçesine bağlı Atlıhan köyünden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208695 olarak kaydedilen 14 numaralı *Astragalus tournefortii* Boiss.'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4. 14. On dört numaralı *Astragalus tournefortii* Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCACTGTGTCCCCTCATGCCTGAACACAAAC
CCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAATTAATAATTCGATCAAAGCGCCCTGCCGCGCCGGAGACGGTGTTTGGCGGTGGTGCCCT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCAAGCCATCAGGTTGAGGGCAGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCCTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAAATCGAGTCCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGGCGATACCGATCA
TGTGCATGCTCCCAAGATATGGCCTCTATGACCCACACGTGTCTTTGGACGTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus tournefortii* Boiss.adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.37.'de görülmektedir.



Şekil 4.37. *Astragalus tournefortii* Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Çatak Atlıhan köyünden alınan ve örnek numarası 14 olan *A. tournefortii*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu tek ana dal ve sahip olduğu çok sayıda saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewi*ve *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopecias*, *A. pendulus*, *A. lycius*.'dan ayırt edilebildiği görülmüştür.

Van'ın Çatak ilçesine bağlı Kanalga köyü Tanrıverdi Mezrası'ndan alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW177875 olarak kaydedilen 16 numaralı *Astragalus comosoides* Chamb. & Matthews'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.16.).

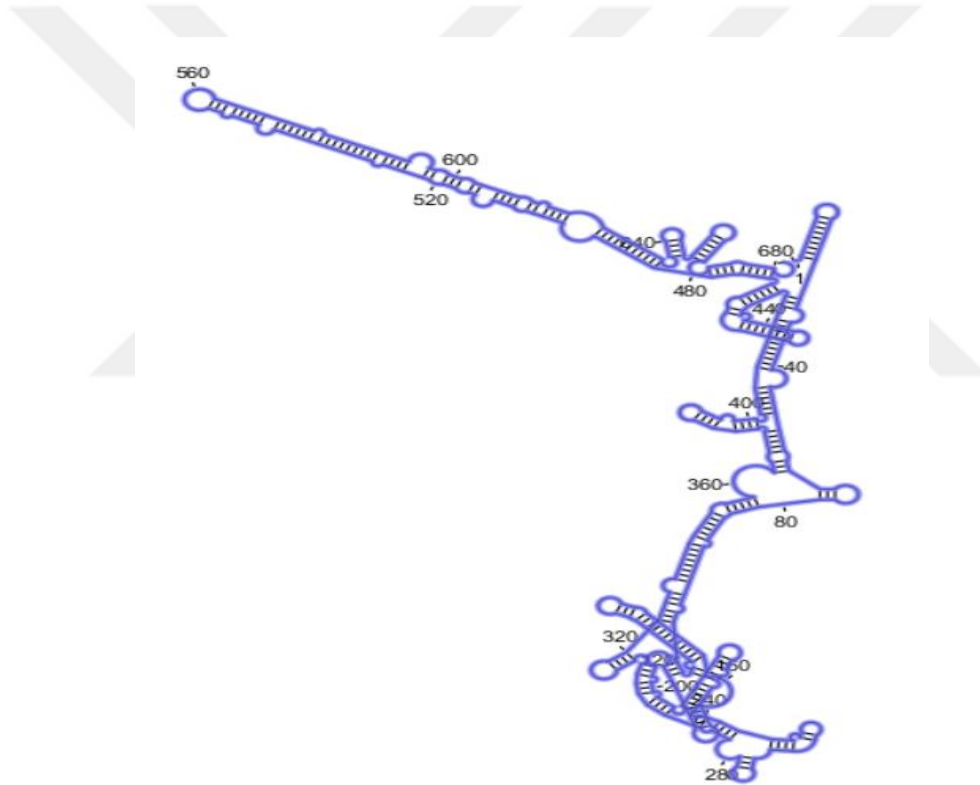
Çizelge 4.15. On altı numaralı *Astragalus comosoides* Chamb.& Matthews adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```

TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGGAGTGCCTCCCCTCTTGCCTGAACACAAAC
CCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACATAAATTCGATCAATGCGCCCCGTCGCCCCGAGACGGTGTCTGGCGGTAGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCCTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATCA
TGTGCATGCTCTCCAAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGTCTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
  
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus comosoides* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.38.'de görülmektedir.



Şekil 4.38. *Astragalus comosoides* Chamb.& Matthews adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Çatak Kanalgı köyü Tanrıverdi Mezrasından alınan ve örnek numarası 16 olan *A. comosoides*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu tek ana dal ve sahip olduğu çok sayıda saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile

kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius* Lam., *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopezias*, *A. pendulus*, *A. lycius*, *A. tournefortii*'den ayırt edilebildiği görülmektedir.

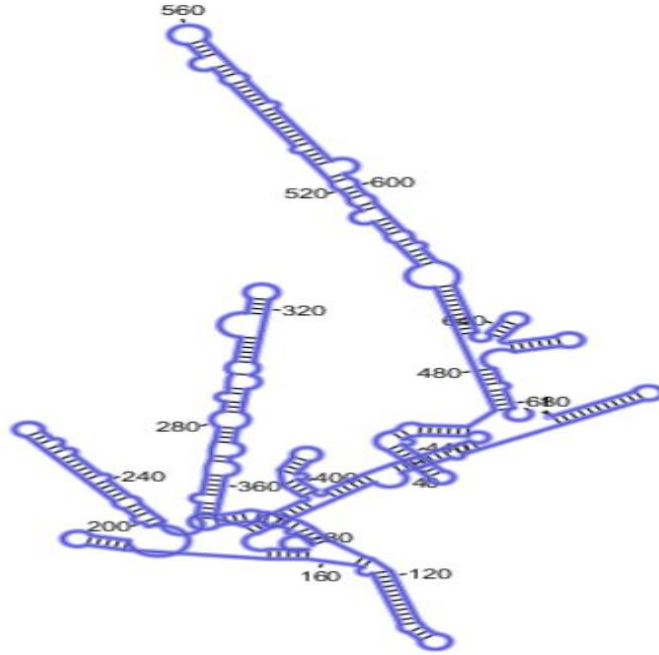
Van Güzeldere Geçidi bakımevi çevresinden alınan ve Gen Bankasına Ulaşım numarası MW177874olarak kaydedilen 17 numaralı *Astragalus bashkalensis* Chamb.'e ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. On yedi numaralı *Astragalus bashkalensis* Chamb. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGATGCCTTACCTGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGCAGTGCGTCCCCCTCTTGCTGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTCTGGCGGTGGTGCCT
TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGC
CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTT
GTTGCATCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATATCGATC
ATGTGCATGCTCTCCAAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGTCTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus bashkalensis* Chamb. adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.39.'da görülmektedir.



Şekil 4.39. *Astragalus bashkalensis* Chamb. rRNA dizisine ait ikincil yapı.

Van-Güzeldere Geçidi bakımevi çevresinden alınan ve örnek numarası 17 olan *A. comosoides*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu üç ana dal ve önceki türlere oranla daha az sayıda sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopezias*, *A. pendulus*, *A. lycius*, *A. tournefortii*, *A. comosoides*'ten ayırt edilebildiği görülmektedir.

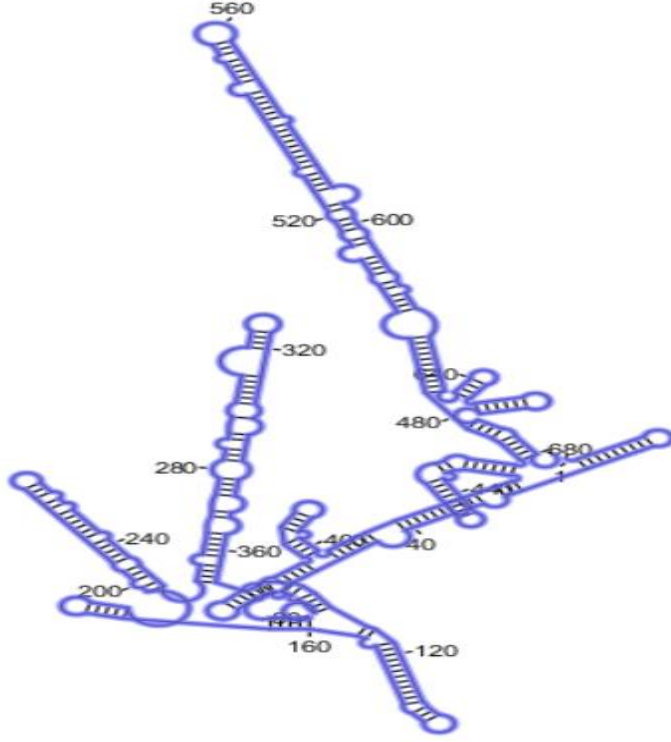
Van Güzeldere Geçidinden aşağı inerken 3 km aşağısından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW205827 olarak kaydedilen 18 numaralı *Astragalus pulchellus*'e ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.17.).

Çizelge 4. 17. On sekiz numaralı *Astragalus pulchellus* Boiss. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGTGC GGAGTGC GTCCCCCTCTGCCTGAACACAAAC
CCCGCGTTCAATGCGCCAAGGAAC TAAAATTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCCGGAGACGGTGCTCGGCGGTGGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGCAACGGATATCTAGGCTCTTG CATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATCA
TGTGCATGCTCTCCAAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGTCTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus pulchellus* Boiss. adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.40.'de görülmektedir.



Şekil 4.40. *Astragalus pulchellus* Boiss. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıdan alınan ve örnek numarası 18 olan *A. pulchellus*'a ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve saç tokası (hair pin) ile Van-Güzeldere Geçidi bakımevi çevresinden alınan *A. bashkalensis* ile çok yakın olduğu görülmektedir.

Van Bahçesaray ile Kerpit Geçidi arasından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208807 olarak kaydedilen 19 numaralı *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis*'e ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.18.).

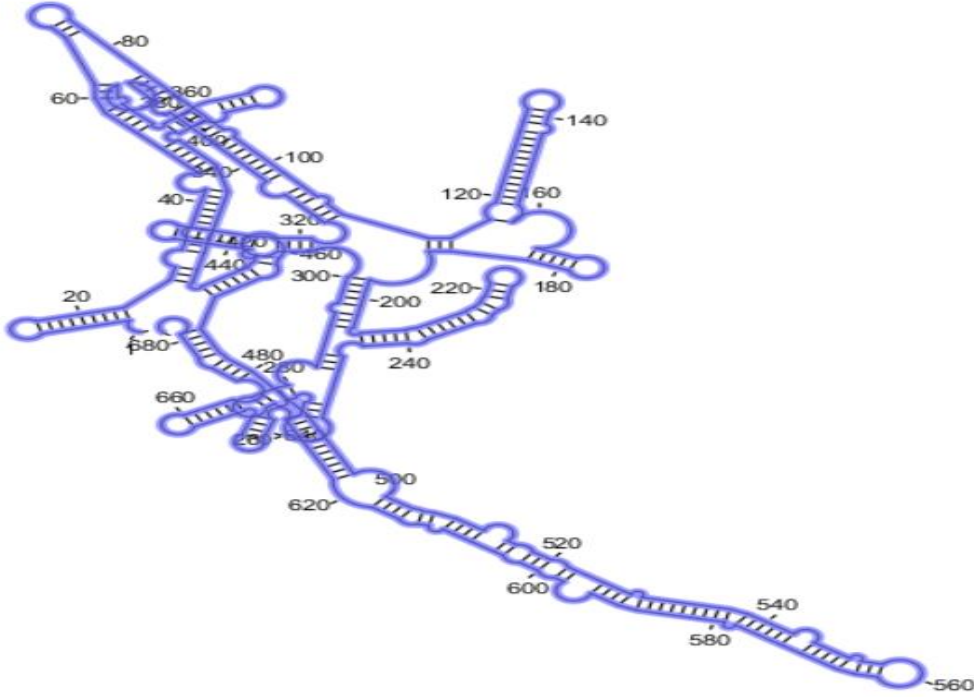
Çizelge 4. 18. On dokuz numaralı *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis* adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```

GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCCTTGGGTAGGAGGGGGCGTGCACTGCGTCCCCTCTTGCCTGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGCTCGGCGGTGGTGCCT
TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGC
CTGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGCAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTT
GTTGCCCTCGCGGTTGGTTGAAAATCGAGTCCCTTGGTAGGGTGTCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATC
ATGTGCATGCTCTCCGAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGCTTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
  
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis* adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.41.'de görülmektedir.



Şekil 4.41. *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm var. *xylobasis* adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Bahçesarayla Kerpit Geçidi arasından alınan ve örnek numarası 19 olan *A. xylobasis* var. *xylobasis*'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve saç tokası (hair pin) ile Van-Çatak Atlıhan Köyünden alınan *A. tournefortii* ile çok yakın olduğu görülmektedir.

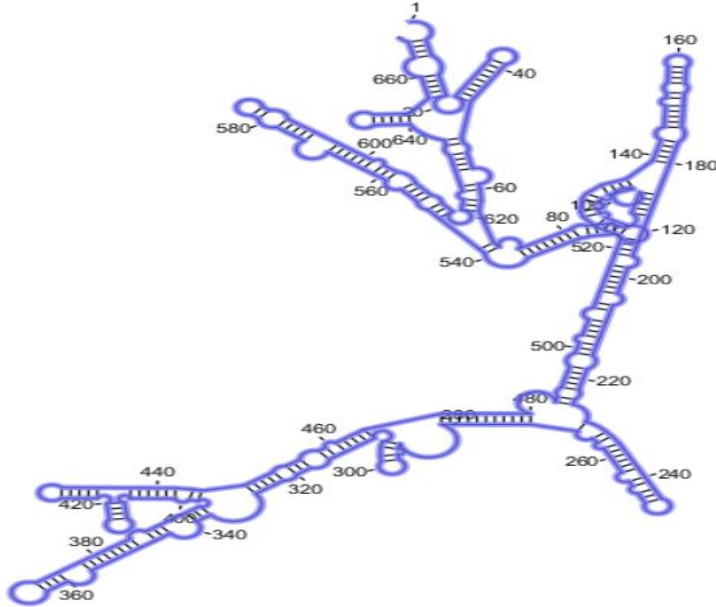
Van Güzeldere Geçidinden aşağı inerken 3 km aşağısından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW289909 olarak kaydedilen 20 numaralı *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech'e ait rDNA üzerindeki 669 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4. 19. Yirmi numaralı *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
GGAAGGAGGGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAAACCAACT
AGTGAATCTGTTTGAATACTTAGGGATGGCTGCGGTGTTTGCACCACGACCTTCCTTTGGGTGGGAGGTGGCGCGCAATGC
GTCCCCCTCCTGCCCGAACACAAAACCCCGGCGCTCAATGCGCCAAGGAACAAAATTCGACCATTTGTCGCCCTGTCGCCCCGG
AGACGGTGCTTCGGCGGTGGTGCCTTGTCACATTATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGA
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGA
AGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATGCCTATTGCAGTGTGATAGGAACTTTTAGG
GCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTGTTGCCTCGCGTTGGTTGAAATTTGAGTCCTTGGTGGGGTGTGCCATGATAGATG
GTGGTCGAGTTAGCACGAGACCAATCATGTGCATGTCCCCCATAATATGGCCTCTATGACCCACATGCGTCTTTTGACGCTC
ATGACGAGACCTCA
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.42.'de görülmektedir.



Şekil 4.42. *Astragalus pinetorum* Boiss. subsp. *declinatus* Podlech adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Güzeldere Geçidinden aşağı inerken karakoldan sonra 3 km aşağıdan alınan ve örnek numarası 20 olan *A. pinetorum* subsp *declinatus*'a ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve önceki türlere oranla farklı sayıda sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile önceki türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla, *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewii* ve *A.s davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopecias*, *A. pendulus* , *A. lycius*, *A. tournefortii*, *A. comosoides*, *A. bashkalensis*, *A. pulchellus*, *A. xylobasis* var *xylobasis*'ten ayırt edilebildiği görülmektedir.

Van iline bağlı Çatak ilçesinden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208691 olarak kaydedilen 21 numaralı *Astragalus cryptocarpus* D.C.'ye ait rDNA üzerinde 674 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.20.).

Çizelge 4. 20. Yirmi bir numaralı *Astragalus cryptocarpus* D.C.adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

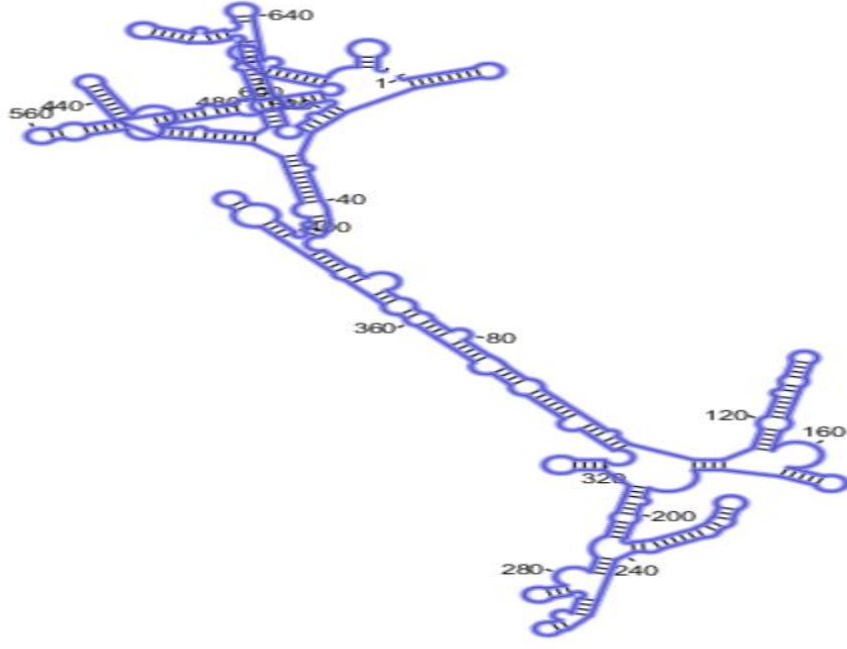
Nükleik Asit Baz Dizisi

```

TTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAAACCAACTAGTGAATCTGTTTGAATACTTAGGGA
TGGCTGCGGTGTTTTGCACCACGACCTTCCTTTGGGTGGGAGGTGGCGCGCAATGCGTCCCCCTCCTGCCGAACACAAACC
CCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTCGATCAATGCTCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCTTG
TCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGT
GTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGATTCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCCT
GGGCGTCACATATCGTTGCCTGATGCCTATTGCAGTGCGATAGGAACTTTTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTGT
TGCCTCGCGGTTGGTTGAAATTTGAGTCCTTGGTGGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGAGACCAATCAT
GTGCAGTCCCCCATAATATGGCTCTATGACCCACATGCGTCTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGCT
ACCCGCTGAATTTAAGCA

```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus cryptocarpus* D.C.adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.43.'te görülmektedir.



Şekil 4.43. *Astragalus cryptocarpus* D.C.adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van Çatak'tan alınan ve örnek numarası 21 olan *A. cryptocarpus* D.C.'e ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve önceki türlere oranla farklı sayıda sahip olduğu saç tokası (hair pin) ile diğer türlerin oluşturduğu ikincil yapıdan ayrıldığı görülmektedir. Türün kendine özgü bu dallanma şekli ile kolaylıkla *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. sachanewi*ve *A. davisii*, *A. baytopianus*, *A. longifolius*, *A. delanensis*, *A. tauricolus*, *A. gevashensis*, *A. gymnalopecias*, *A. pendulus*, *A. lycius*, *A. tournefortii*, *A. comosoides*, *A. bashkalensis*, *A. pulchellus*, *A. xylobasis* var *xylobasis*, *A. pinetorum* Subsp *declinatus* Podlech'ten ayırt edilebildiği görülmektedir.

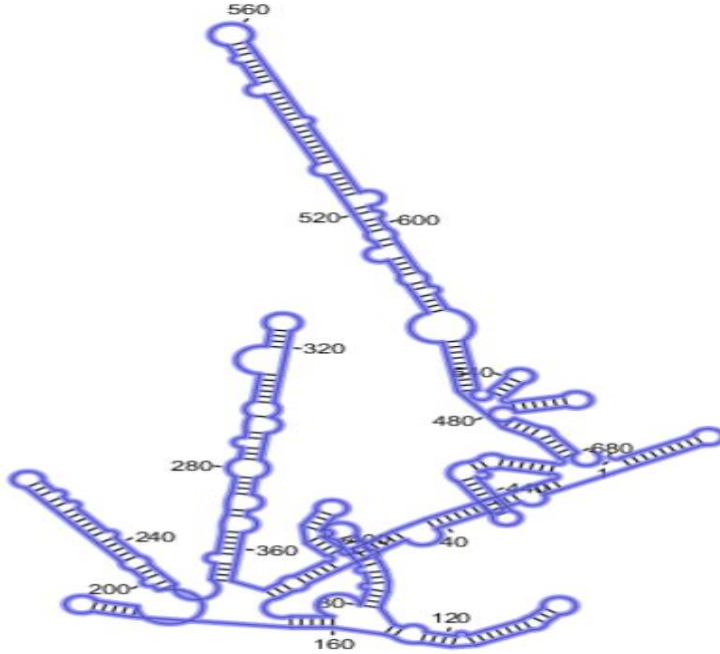
Van'dan Çatağa bağlı Görentaş köyüne doğru Görentaş köyünün girişinden alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW208693 olarak kaydedilen 22 numaralı *Astragalus hareftae*(Nab.) Sirj.'ye ait rDNA üzerindeki 686 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.21.).

Çizelge 4.21. Yirmi iki numaralı *Astragalus hareftae*(Nab.) Sirj. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTTGAATACATAGGG
ATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGGCCTCCCTTTGGGTAGGAGGGGGCGCGACTGTGTCCCCTCATGCCTGAACACAAAC
CCCGCGTTCAATGCGCCAAGGAATAAAATTCGATCAATGCGCCCTGCCGCGCCGAGACGGTGTGGCGGTGGTGCCTT
GTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTCCCGTGAGCGTTG
TTGCCTCGCGGTGGTTGAAAATCGAGTCCCTGGTTGGGTGGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGGACGATACCGATCA
TGTGCATGCTCCCAAGATATGGCCTCTATGACCCACACGTGTCTTTGGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGGC
TACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus hareftae*(Nab.) Sirj. adlı türün rRNA'sına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.44.'te görülmektedir.



Şekil 4.44. *Astragalus hareftae*(Nab.) Sirj. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van'dan Görentaş'a doğru Görentaş girişinden alınan ve örnek numarası 22 olan *A. hareftae*'ye ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve saç tokası (hair pin) ile Van-Çatak Yukarı Narlıca Köyü batısından alınan *A. pendulus* ile çok yakın olduğu görülmektedir.

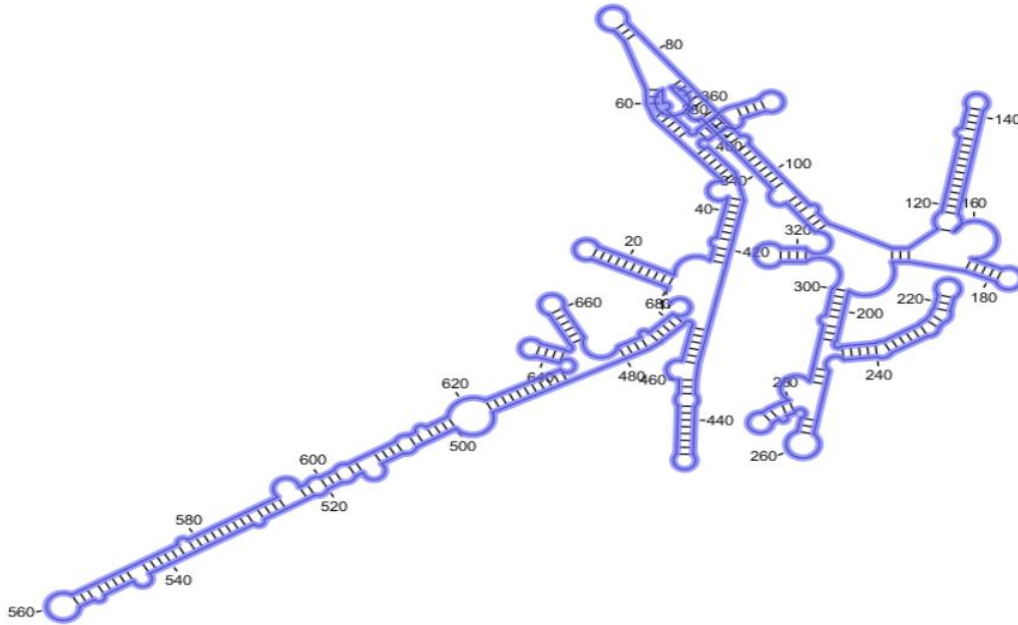
Van Güzeldere çıkışından alınan ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW205835 olarak kaydedilen 24 numaralı *Astragalus bicolor* Lam.'a ait rDNA üzerindeki 687 bp uzunluğunda DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.22.).

Çizelge 4.22. Yirmi dört numaralı *Astragalus bicolor* Lam. adlı türün rDNA'sı üzerindeki ITS1-ITS2 bölgesine ait nükleik asit baz dizisi.

Nükleik Asit Baz Dizisi

```
TTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATGCCTTACATGCAGACCAACTCGTGAATTTGTTGAATACATAGG
GATGGCACGGGTGTTTTGCACCACGACCTCCCCTTGGGTAGGAGGGGGCATGCACTGCGTCCCCTCTTGCTGAACACAAA
CCCCGGCGTTCAATGCGCCAAGGAACTAAAATTTCGATCAATGCGCCCCGTCGGCCCGGAGACGGTGTCTCGGCGGTGGTGCCT
TGTCACATGATACAGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG
GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCAAGCCATCAGGTTGAGGGC ACGTCTGC
CTGGGCGTCACATATCGTTGCCGATACCTATTGCAGTGAATAGGAATTTCTAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTT
GTTGCCTCGCGGTTGGTTGAAAAATCGAGTCCTTGGTAGGGTGTGCCATGATAGATGGTGGTTCGAGTTAGCACGATACCGATC
ATGTGCATGCTCTCCGAAACATGGCCTCTATGACCCACACGCGCTTTTTGACGCTCATGACGAGACCTCAGGTCAGGCGGGG
CTACCCGCTGAATTTAAGCATATCAATAAGC
```

CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemi kullanılarak, *Astragalus bicolor* Lam. adlı türün rRNA'nına ait oluşturulan ikincil yapı Şekil 4.45.'te görülmektedir.



Şekil 4.45. *Astragalus bicolor* Lam. adlı türün rRNA dizisine ait ikincil yapısı.

Van-Güzeldere çıkışından alınan ve örnek numarası 24 olan *A. bicolor* Lam.'a ait CLC Main Workbench yöntemiyle elde edilen ikincil yapı incelendiğinde sahip olduğu ana dal sayısı ve saç tokası (hair pin) ile Van-Hoşap Üçgen Köy yolunun sonundan alınan *A. lycius* Boiss. adlı tür ile çok yakın olduğu görülmektedir.



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* L. cinsine ait endemik türler biriktirilerek moleküler bir dizi işlemde sonra türler arasındaki akrabalık dereceleri filogenetik analiz yöntemleriyle belirlenmiştir. Kullanılan yöntemler bitki teşhisinde büyük kolaylıklar sağlamak ve türleri birbirinden ayırt etmede doğru sonuçlara ulaştırmaktadır.

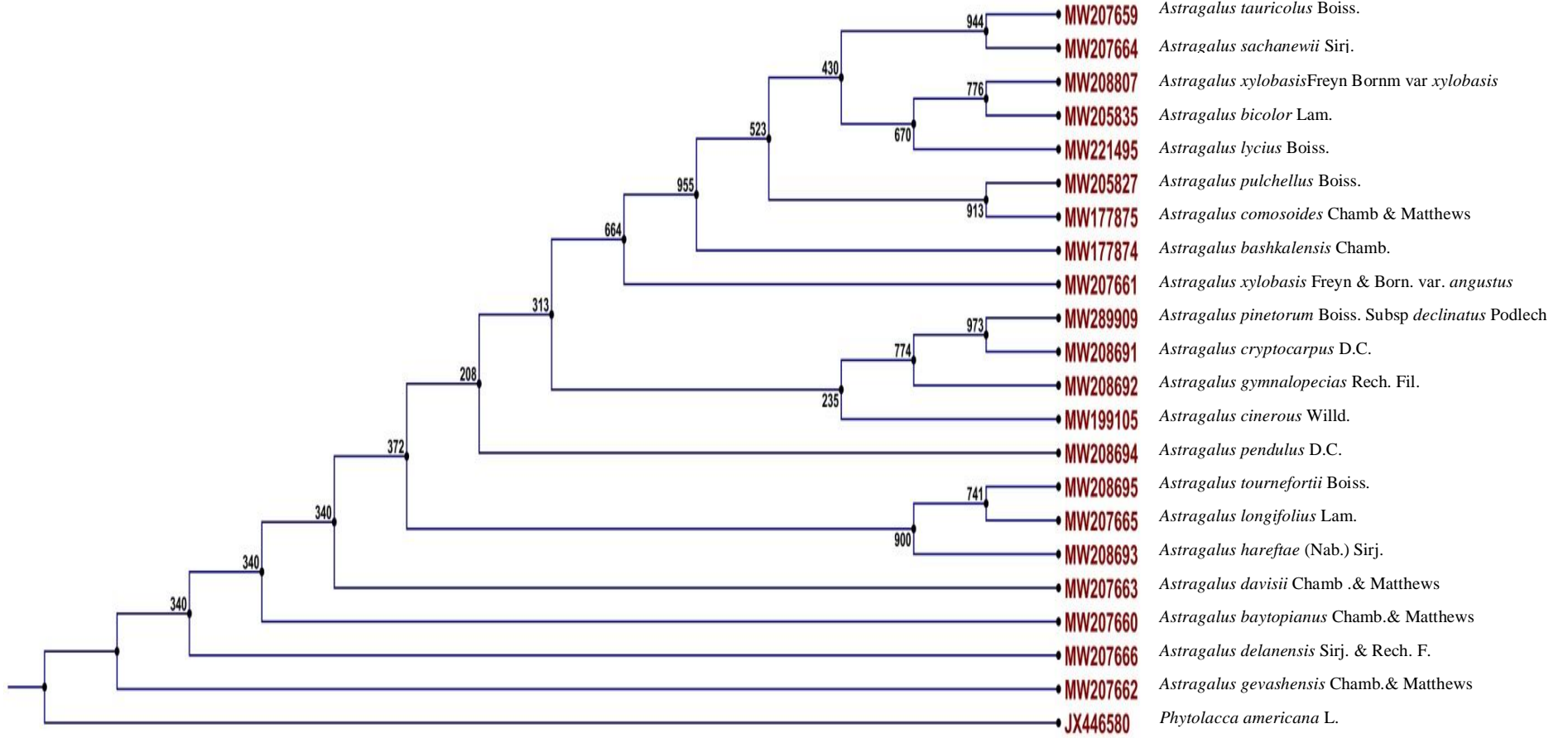
Çalışmada Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* cinsine ait 82 tür toplanmış ve bu türlerden 19'unun endemik, 2 tanesinin de nadir bitki olduğu belirlenmiştir. Toplamda 21 tür ile çalışılmıştır. Bu türlerin sistematik teşhisleri yapılmıştır. *A. cinerous* (Van-Çatak), *A. xylobasis* var. *angustus* (Van-Bahçesaray), *A. davisii* (Van-Bahçesaray), *A. sachanewii* (Van-Bahçesaray), *A. baytopianus* (Van-Görentaş), *A. delanensis* (Van-Yapılı Köy), *A. longifolius* (Van-Bahçesaray), *A. tauricolus* (Van-Gürpınar), *A. gevashensis* (Van-İnköy), *A. gymnalopecias* (Van-Yapılı köy), *A. pendulus* (Van-Çatak), *A. lycius* (Van-Hoşap, Üçgen köy), *A. tournefortii* (Van-Çatak), *A. comosoides* (Van-Çatak, Kanalga köyü), *A. bashkalensis* (Van-Güzeldere Geçidi), *A. pulchellus* (Van-Güzeldere Geçidi), *A. xylobasis* var. *xylobasis* (Van-Bahçesarayla Kerpit Geçidi arası), *A. pinetorum* subsp. *declinatus* Podlech (Van-Güzeldere Geçidi), *A. cryptocarpus* (Van-Çatak) isimli türlerin endemik oldukları tespit edilmiştir.

Nadir olarak tespit edilen türler ise, *A. hareftae* (Nab.) ve *A. bicolor* olmuştur.

DNA dizilemesi yapılan *Astragalus* türlerine ait genom bilgileri farklı programlar (Snapgene, CLC DNA workbench) ile analiz edilmiştir. Belirtilen tüm programlar çalışmada kullanılmıştır. Çalışmada her programın farklı bir özelliğinden yararlanılmıştır. DNA dizilemesi sonrasında *Astragalus* L. cinsinin farklı türlerine ait elde edilen DNA dizileri, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen bankasına kayıtları yapılarak dünyadaki tüm araştırmacıların kullanımına sunulmuştur. Ayrıca çalışmada, CLC DNA Workbench yöntemi kullanılarak yapılan filogenetik analizler sonucunda *Astragalus* L. cinsine ait belirlenen türlerin ikincil yapıları oluşturulmuştur. İkincil yapılar filogenetik çalışmaları destekleyici niteliktedir ve türlerin filogenetik teşhislerine kesinlik kazandırması açısından çok önemlidir. Bu şekilde belirlenen ikincil yapılar teşhiste rahatlıkla kullanılabilir. Elde ettiğimiz filogenetik ağaç ve ikincil yapılar sayesinde topladığımız türlerinin morfolojik teşhislerinin doğruluğu kanıtlanmış ve endemik türler olduğu kesinleşmiştir.

Şekil 5.1’de yer alan filogenetik ağaçta; Gen Bankası Ulaşım numarası MW207659 olan *A. tauricolus* ve Gen Bankası Ulaşım numarası MW207664 olan *A. sachanewii*; Gen Bankası Ulaşım numarası MW208807 *A. xylobasis* var. *xylobasis* ile nadir bir tür olan MW205835 numaralı *A. bicolor*’un; Gen Bankasına Ulaşım numarası MW205827 *A. pulchellus* ve MW177875 numaralı *A. comosoides*; Gen Bankası Ulaşım numarası MW289909 olan *A. pinetorum* subsp. *declinatus* ile MW208691 numaralı *A. cryptocarpus*; Gen Bankası Ulaşım numarası MW208695 *A. tournefortii* ile MW207665 numaralı *A. longifolius* adlı endemik türlerin aynı dalda konumlandıkları ve birbirlerine en yakın türler oldukları tespit edilmiştir.





Şekil 5.1. *Astragalus* L.cinsine ait endemik türlerin CLC DNA Workbench programıyla elde edilen filogenetik ağacı.

Filogenetik ağacın yanı sıra destekleyici nitelikte olması açısından çalışılan 21 türün CLC Main Workbench 6.7.1 yöntemiyle ikincil yapıları oluşturulmuş ve buna göre *A. cinerous*, *A. xylobasis* var. *angustus*, *A. davisii*, *A. longifolius*, *A. gymnales*, *A. comosoides*, *A. pinetorum* subsp. *declinatus*, *A. cryptocarpus* türlere ait ikincil yapıların farklı olduğu tespit edilmiştir.

Bu türlerin yanı sıra *A. sachanewii* ile *A. tauricolus*'e ait ikincil yapıların birbirine benzer olduğu ve filogenetik ağaçta da bu türlerin aynı dalda konumlandığı belirlenmiştir. Aynı şekilde *A. baytopianus*, *A. delanensis* ve *A. gevasiensis* adlı türlere ait ikincil yapılar birbirine benzer çıkmış ve filogenetik ağaçta da bu türlerin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra endemik olan *A. pendulus* ile nadir olan *A. hareftae*, adlı türlere ait ikincil yapılar birbirine benzer çıkmış ve filogenetik ağaçta bu türlerin aynı dalda konumlandığı belirlenmiştir. Endemik olan *A. lycius* ile nadir olan *A. bicolor*'a ait ikincil yapılar birbirine benzer çıkmış ve filogenetik ağaçta bu türlerin birbirine olan yakınlığı desteklenmiştir. Endemik olan *A. tournefortii* ile yine endemik olan *A. xylobasis* var. *xylobasis* adlı türlere ait ikincil yapılar birbirine benzer çıkmış ve filogenetik ağaçta bu türlerin birbirine olan yakınlığının desteklendiği belirlenmiştir. Endemik tür olan *A. bashkalensis* ile *A. pulchellus* adlı türlere ait ikincil yapılar birbirine benzer çıkmış ve filogenetik ağaçta da bu türlerin aynı dalda konumlandığı belirlenmiştir.

Bu çalışmanın bulguları incelendiğinde daha önce bu konuda yapılan bazı çalışmalarla paralellik gösterdiği belirlenmiştir. 2017 yılında Ateş (2017) tarafından Türkiye genelindeki *Astragalus* türleri üzerine yapılan çalışmada kloroplast DNA'sına ve nükleer genom bölgelerine ait DNA dizileri kullanılarak altı adet *Astragalus* seksiyonuna ait toplam otuz türün filogenetik ilişkileri ve türleşme zamanları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışılan *Astragalus* seksiyonları içerisinde *Halicacabus* ve *Megalocystis* seksiyonlarının genetik açıdan birbirlerine en yakın seksiyonlar olduğu belirlenmiştir. Bunlara ek olarak *Hymenocoleous* seksiyonuna ait olan *Astragalus vaginans* türünün her zaman *Hymenostegis* seksiyonuna ait türlere yakın fakat onlardan ayrı bir dalda konumlandığı görülmüştür. Ayrıca *Astragalus trifoliatum* türü de ait olduğu *Hymenostegis* seksiyonunun diğer türlerinden farklı alt dalda yer aldığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Macrophyllium seksiyonuna ait *Astragalus dipodurus* ve *Astragalus oleaefolius* türleri de seksiyonun diğer türlerinden tüm çalışılan cpDNA ve nDNA bölgelerine göre elde edilen filogenetik ağaçlarda, farklı dallarda yer aldığı bildirilmiştir.

Benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren üç seksiyonun (Incani DC., Hypoglottidei DC. ve Dissitiflori DC.) kendi içlerinde ve aralarında var olan evrimsel ilişki kloroplast ve nükleer genomda bulunan birkaç bölgedeki nükleotit dizi varyasyonlarıyla belirlenmek istenmiştir. Üç *Astragalus* seksiyonunda bulunan 56 türün filogenetik ilişkilerini anlamak ve farklılaşma zamanını belirlemek için DNA’da bulunan ITS (internal transcribed spacer) bölgesinin DNA dizileri kullanılmıştır. Kopyaları ile birlikte 56 *Astragalus* cinsine ait tür ve dış grup olarak kullanılan *Cicer* cinsine ait bir tür, polimeraz zincir reaksiyonu ve DNA sekanslama metodu kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca 11 tane tayin edilememiş örnek, her birinin seksiyonlarını anlamak ve isimlendirmesini yapmak için çalışmada kullanılmıştır. Çalışma sonunda tanımlanmamış A35 ve A52 örneklerinin *A. dasycarpus*, A65 ve A66 örneklerinin *A. ovatus* ve son olarak A2 örneğinin *A. nitens* veya *A. aucheri* olarak isimlendirilmesine karar verilmiştir. Tanımlanmamış A3, A16, A20, A108, A109 ve A110 örneklerinin seksiyonu Incani olarak saptanmıştır. Fakat kesin isimlendirilmeleri birden fazla türle olan yakınlıktan dolayı yapılamamıştır (Dizkırıncı, 2012).

Bir başka çalışmada Legüme cinsi *Astragalus* ve 12 ilişkili cinsi temsil eden 115 tür arasındaki filogenetik ilişkileri ITS ve Nükleer Ribozomal DNA’nın 5.85 genindeki nükleotid dizi varyasyon analizi yapılmıştır. Bu taksonların ikincil dizileri için ITS verileri kloroplast trnL intronundan gelen dizilerle desteklenmiştir. Dizi ve ekleme/çıkarma karakterlerinin analizlerinden türetilen filogenilerin tümü, *Astragalus*’un büyük çoğunluğunun (aykırı türler hariç) monofiletik olduğunu göstermiştir. Aneuploid kromozom sayılarına ($n = 11-15$) sahip tüm Yeni Dünya *Astragalus* türleri artık Akdeniz aneuploid *Astragalus echinatus*’u içeren bir monofiletik grup (Neo-*Astragalus*) oluşturmuştur. Diğer Eski Dünya aneuploid Neo-*Astragalus* ile doğrudan ilişkili olmadığı, daha çok Eski Dünya euploid ($n = 8, 16$) grupları arasında bulunduğu ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde, euploid sayılara sahip nispeten az sayıda Kuzey Amerika türü, Neo-*Astragalus*’a en yakın akraba olamamış, ancak hem aneuploid hem de euploid türleri içeren farklı Eski Dünya grupları arasında dağılmıştır. Tarihsel olarak akraba cins *Oxytropis*, *Astragalus* ile daha büyük Astragalean soyu içinde ayrı bir sınıf oluşturduğu tespit edilmiştir. Ayrı cins olan *Astracantha* (Avrasya) ve *Orophaca* (Kuzey Amerika) açıkça *Astragalus* ile iç içe geçmiştir. Güney Amerika *Astragalus* türleri, Neo-*Astragalus* içinde yer almıştır ve bağımsız olarak türetilmiş en az iki soydan (Kuzey Amerika) akrabalarıyla birlikte olduğu bulunmuştur (Wojciechowski ve ark., 1999).

Başka bir çalışmada temsil edilen *Astragalus*’un 48 türünün ve 12 ilişkili cinsin diğer ITS verileriyle birlikte analizlenen ve ITS ile (örn; ITS1, 5.8S rRNA geni ve ITS2) *Caragana*

roboskyi ve *Astragalus*'un sekiz alt cinsi dizilenmiştir. Filogenetik analiz sonucunda *Astragalus* cinsine ait alt cinslerinin monofiletik olmadığı tespit edilmiştir. Sect. *Sesbanella* ve *Astragalus*'un diğer türlerin filogenetik ağaçta farklı önemli sınıflarla iç içe geçtiği bildirilmiştir (Kang ve ark., 2003).

Bir başka çalışmada trnL-F ve ndhF ve nrDNA ITS içeren iki kloroplast kısmı kullanılarak seçilen Eski Dünya *Astragalus*'un filogenetik analizleri yapılmıştır. 34 euploid Eski Dünya ve Yeni Dünya *Astragalus*'u dahil toplam 52 taksonla çalışılmış ve ITS baz uzunlukları tespit edilmiştir (Kazemi ve ark., 2009).

Benzer bir çalışmada nrDNA'nın ITS ve 5.8S karşılaştırmalı dizileme, alt cinsler arasındaki filogenetik ilişkileri ve Eski Dünya *Astragalus*'un bölümlerini incelemek ve aynı zamanda *Barnebyella* and *Ophiocarpus* cinslerini ayırmak için uygulanmıştır (Osaloove ark., 2003).

İki iplikli DNA'nın yapısında, tamamlayıcı nükleik asit iplikleri hidrojen bağları ile Adenin Timin ile Guanin ise Sitozin ile bağlanarak sıkı bir yapı oluşturmaktadır. RNA molekülleri genellikle tek iplikli moleküller olduğundan buldukları ortam koşullarında tıpkı DNA'daki bağlanma mekanizmasında olduğu gibi kendi üzerlerine katlanarak ikincil yapı oluşturma eğilimindedirler. RNA molekülünün oluşturduğu bu ikili yapılara "heliks" ya da "gövde" adı da verilmektedir (Hofacker ve ark, 2004). *Astragalus* türlerinin ribozomal RNA dizilerinin CLC workbench programı yardımı ile oluşturulan ikincil yapılarının türe özgü dallanma yapısı gösterdiği ve aynı türe ait RNA dizilerinin oluşturduğu gövde ve dallanma şekillerinin birbirlerine oldukça benzediği tespit edilmiştir. Yürütülen bu çalışmada RNA moleküllerinin oluşturduğu ikincil yapı motiflerinin tür teşhisinde tamamlayıcı bir özellik olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Dizkirci ve ark. (2014), yaptıkları bir çalışmada *Astragalus* L. (Fabaceae) cinsine ait Türkiye (Eski Dünya türleri) ve Yeni Dünya türlerinden üç tür üzerinde nrDNA ITS dizileri kullanılarak karşılaştırmalı moleküler filogenetik çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Filogenetik ağaçta, *Astragalus* bölümleri arasında çalışılan Incani DC., evrimsel olarak diğer bölümlerden ayrılmış ve en fazla korunan ITS bölgesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmada karşılaştırmalı olarak analiz edilen birkaç Yeni Dünya (Neo-) *Astragalus* L. cinsine ait türün DNA sekansları, *Astragalus*'un Yeni Dünya aneuploid türlerinin açıkça Eski Dünya türlerinden ayrılmış bir grup oluşturduğunu göstermiştir.

Çalışmada teşhisi yapılan 21 *Astragalus* türüne ait filogenetik ağaçta oluşturulan gruplar ile bu türlere ait ikincil yapılar karşılaştırıldığında filogenetik ağacın aynı dalında konumlanan *A. tauricolus* ile *A. sachanewii*'e ait ikincil yapılarında birbirine çok

yakın olduğu tespit edilmiştir. Filogenetik ağacın aynı dalında yer *A. xylobasis* var *xylobasis* ile *A. bicolor*'ın ikincil yapılarının birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir. *A. var xylobasis*'in *A. tournefortii* ile *A. bicolor*'un ise *A. lycius* ile ikincil yapısı benzer çıkmıştır. Filogenetik ağaçta aynı dalda yer alan *A. pulchellus* ile *A. comosoides*'in ikincil yapılarının birbirinden farklı olduğu ortaya çıkmıştır. *A. pulchellus*'un *A. bashkalensis* ile ikincil yapısı benzer çıkmıştır. *A. comosoides*'in ise kendine özgü bir ikincil yapısı olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde filogenetik ağaçta aynı dalda konumlanan *A. pinetorum* subsp. *declinatus* ile *A. cryptocarpus*'a ait ikincil yapılarının kendine özgü bir yapı oluşturduğu belirlenmiştir. Filogenetik ağaçta aynı dalda yer alan *A. tournefortii* ile *A. longifolius*'un ikincil yapısı göz önünde bulundurulduğunda *A. tournefortii*'nin ikincil yapısının *A. xylobasis* var *xylobasis* ile çok yakın olduğu tespit edilmiştir. *A. longifolius*'ın ise ikincil yapısının kendine özgü bir yapı oluşturduğu ortaya çıkmıştır.

Flora of Turkey'in yazımı aşamasında kısıtlı vakit ve kısıtlı materyallerle çalışılmasından dolayı çoğu cins ya da seksiyonlardaki eksiklikler Flora'da belirtilmiş fakat çözüm getirilememiştir. Bu sorunlu cinslerin başında *Astragalus* L. cinsi yer almaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Van Gölü Havzası'nda *Astragalus* L. cinsine ait toplam 82 bitki örneği biriktirilmiş ve sistematik teşhisleri yapılmıştır. Yürütülen moleküler bir dizi işleminden sonra türler arasındaki akrabalık dereceleri filogenetik analiz yöntemleriyle belirlenmiş ve ikincil yapıları araştırılmıştır. Buna göre türlerin filogenetik ağaçtaki konumlanma durumu ve ikincil yapıları karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve sonuçların birbirini destekleyici nitelikte oldukları tespit edilmiştir. Aynı zamanda bitkilere ait nrDNA ITS bölgesi uzunluğunun 669 ile 687 baz çifti arasında değiştiği ve bu sonucun tür teşhisi yapmaya yetecek bilgiyi sağlaması açısından yeterli uzunlukta olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma bir revizyon çalışmasıdır.



KAYNAKLAR

- Akan, H. ., Firat, M., Ekici, M. ., 2007. *Astragalus bahcesarayensis* (Leguminosae-Papilionodeae), a new species of section *Alopecuroideio*C. From Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **156**: 439-444.
- Allan, G. J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Boerner, E., Zimmer, E. A., 2004. Molecular phylogenetic evidence for the geographic origin and classification of Canary Island Lotus (Fabaceae Loteae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **32**(1): 123-138.
- Allen, O. N., and Allen, E. K., 1981. *The Leguminosae: A Source Book of Characteristics, Uses, and Nodulation*. University of Wisconsin Press. Madison.
- Anonim, 2017. ENDEMİZM. <http://biyologlar.com/endemizm> (Erişim Tarihi: 14.01.2019).
- Anonim, 2018. *Astragalus* nedir. <https://supplementansiklopedisi.com/astragalus-geven-otunedir> (Erişim Tarihi: 14.01.2019).
- Anonim, 2019a. *Astragalus*. http://www.turkastragalus.8m.net/C_Tar.htm (Erişim Tarihi: 16.01.2019).
- Anonim, 2019b. Van Gölü Havzası Sanal Herbariumu. <http://www.Vanherbarium.yyu.edu.tr/ingindex.htm> (Erişim Tarihi: 15.01.2019).
- Ateş, M. A., 2017. *Molecular Phylogenetic Relationships Of Six Astragalus L.* Doctoral dissertation, Middle East Technical University.
- Avcı, M., 2012. Çeşitlilik ve endemizm açısından türkiye'nin bitki örtüsü. *Coğrafya Dergisi*, (13): 27-55.
- Avcı, M., Denek, N. ve Kaplan, O., 2012. Çelikhane doğal bitki florasında bulunan geven (*Astragalus gummifer*) bitkisinin 4 besin değerinin belirlenmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1**(1): -446.
- Aytaç, Z., 2000. *Güner et al. eds. Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları (Ek II)*. Edinburgh University Press, Yay. No: 11, Edinburgh. 79-88.
- Aytaç, Z. and Ekici, M. 2012. *Astragalus*. In: Güner, A. et al. (Eds), Türkiye bitkileri listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları*, 427-456.
- Baldwin, B. G., 1995. Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S. ve Donoghue, M. J., 1995. TheitsRegion of NuclearRibosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on AngiospermPhylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **82** (2): 247–277.
- Baldwin, B. G., 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the Compositae. *Molec. Phylogenetics Evol.* **1**: 3-16.
- Baldwin, B. G., ve Markos. S., 1999. Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S–26S rDNA. Congruence of ETS and ITS trees of Calycadenia (Compositae). *Mol. Phyl. Evol.*, **10**: 449-463.
- Barneby, R. C., 1964. *New York Botanical Garden*. Madison Üniversitesi, Yay. No: 13, Madison. 1188.
- Başbağ, M., Kavak, B., Firat, M., Çağan, E. ve Salih, M., 2018. Türkiye Florasında Yer Alan Endemik *Astragalus* Taksonları.
- Bedir, E., Çalış, İ., İkhlas, K. A., 2000. Macrophyllosaponin E: A novel compound from the roots of *Astragalus oleifolius*, *Chem. Pharm. Bull.* **48**(7): 1081-1083.

- Chamberlain, D. F. and Mathews, M. A., 1970. *Astragalus* – In: Davis P. H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 3: 60–69. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Cohen, B. L. ve Weydmann A., 2005. Molecular Evidence That Phoronids are a Subtaxon of Brachiopods (Brachiopoda: Phoronata) and That Genetic Divergence of Metazoan Phyla Began Long before the Early Cambrian Organisms Diversity and Evolution, 5/4, 253.
- DAVIS, P. H., 1978. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 6:222-237, Edinburgh.
- Davis, P. H. and Milli, R. R., 1988. *Türkiye florası ve doğu Ege adaları*, (Ek I). Edinburgh University Press, Yay. No: 10, Edinburgh. 166-169.
- Dizkirici, A., Ekici, M. ve Kaya, Z., 2014. Comparative molecular phylogenetics of *Astragalus* L. sections from Turkey with New World *Astragalus* species using nrDNA ITS sequences. *Plant systematics and evolution*, 300(1): 163-175.
- Dizkirici, A., 2012. Phylogenetic relationships between three sections of *Astragalus* genus (Incarni DC., Hypoglottidei DC., and Dissitiflori DC.) and their comparisons with neo-*Astragalus* group based on ITS nrDNA region. *The Second International Symposium on the Biology of Rare and Endemic Plant Species*. Nisan 2012, Muğla. 4.
- Duman, H. ve Akan, H., 2003. Türkiye'den yeni *Astragalus* türleri. *Linnean Society Botanik Dergisi*, 143 (2): 201-205.
- Gentry, H. S., 1957. İran'da kitle sakızı. *Econ Bot.* 11: 40–63
- Gong, W., Ma, L., Gong, P., Liu, X., Wang, Z. ve Zhao, G., 2018. Development and application of EST–SSRs markers for analysis of genetic diversity in erect milkvetch (*Astragalus adsurgens* Pall.). *Molecular biology reports*, 1-4.
- Hofacker, I. L., Stadler, P. F., and Stocsits, R. R. (2004). Conserved RNA secondary structures in viral genomes: a survey. *Bioinformatics*, 20(10): 1495-1499.
- Kadioğlu, B., Kadioğlu, S., ve Turan, Y., 2008. Gevenlerin (*Astragalus* sp.) Farklı Kullanım Alanları ve Önemi. *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 14(1): 17-26.
- Kang, Y., Zhang, M. L. ve Chen, Z. D., 2003. A Preliminary Phylogenetic Study of the Subgenus Pogonophace (*Astragalus*). *Acta Botanica Sinica*, 45(2): 140-145.
- Kazemi, M., Kazempour Osaloo, S., Asghar Maassoumi, A. ve Rastegar Pouyani, E., 2009. Molecular phylogeny of selected Old World *Astragalus* (Fabaceae): incongruence among chloroplast trnL-F, ndhF and nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Nordic Journal of Botany*, 27(5): 425-436.
- Kaçmaz, S., 2007. Kıymeti Bilinmeyen Bitki: Geven. *Ekoloji Magazin Dergisi*, 13: 88- 89.
- Kellogg, E.A., 1998. Who's Related to Whom? Recent Results from Molecular Systematic Studies, *Current Opinion in Plant Biology*, 1(2): 149.
- Koç. A., Gökkus. A. 1998. Dogu Anadolu'da Yapılan Çayır ve Mera Çalışmalarının Pratiğe Aktarılması. *Dogu Anadolu Tarım Kongresi Bildiri Kitabı*, 14-18 Eylül 1998. Erzurum. 419-428.
- Leontis, N. B., Westhof, E., 2001. Geometric nomenclature and classification of rna base pairs. *RNA*, 7(4): 499–512.
- Li, F., Zheng, Q., Ryvkin, P., Dragomir, I., Desai, Y., 2012. Global analysis of rna secondary structure in two metazoans. *Cell Rep*, 1: 69–82.
- Lock, J. M. and Simpson, K., 1991. Legumes of West Asia: a Check-list. *Royal Botanic Gardens, Kew*, 274.
- Massatti, R., Belus, M. T., Dowlathshahi, S., ve Allan, G. J., 2018. Genetic analyses of *Astragalus* sect. Humillimi (Fabaceae) resolve taxonomy and enable effective conservation. *American journal of botany*, 105(10): 1703-1711.
- Mabberley, D. J., 1997. *The Plantbook, A Portable Dictionary of the Vascular plants*, 2nd edition. Cambridge University press.

- Mummenhoff, K., Franzke, A. and Koch, M., 1997. Molecular data reveal convergence in fruit characters used in the classification of *Thlaspi* s. l. ***Botanical Journal Of The Linnean Society***, **125** : 183-199.
- Ogden T.H., 2005. Whiting M.F., Phylogeny of Ephemeroptera (Mayflies) Based on Molecular Evidence, ***Molecular Phylogenetics and Evolution***, **37**(3): 625.
- Osaloo, S. K., Maassoumi, A. A. and Murakami, N., 2005. Molecular systematics of the Old World *Astragalus* (Fabaceae) as inferred from nrDNA ITS sequence data. ***Brittonia***, **57**(4): 367-381.
- Osaloo, S. K., Maassoumi, A. A. ve Murakami, N., 2003. Molecular systematics of the genus *Astragalus* L.(Fabaceae): phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndhF* sequences. ***Plant Systematics and Evolution***, **242**(1-4): 1-32.
- Öncüler, C., 1995. ***Tarimsal Zararlılarla Savas Yöntemleri ve İlaçları***. Adnan Menderes Üni. Zir. Fak. Bitki Koruma Bölümü. İzmir.
- Petrov, A. S., Bernier, C. R., Gulen, B., Waterbury, C. C., Hershkovits, E., Hsiao, C., Williams, L. D., 2014. Secondary structures of rRNAs from all three domains of life. ***PLoS One***, **9**(2): 88-222.
- Podoplelova, Y. and Ryzhakov G., 2005. Phylogenetic Analysis of the Order Nymphaeales Based on the Nucleotide Sequences of the Chloroplast Its 2-4 Region, ***Plant Science***, **169**(3): 606.
- Podlech, D., 1990. Revision von *Astragalus* L. sect. *Platyglottis* Bunge (Leguminosae). – Mitt. Bot Staat **29**: 541–572.
- Podlech, D., Zarre, S., [with collaboration of Ekici, M., Maassoumi, A.A. and Sytin, A.] 2013. A taxonomic revision of the genus *Astragalus* L. (Leguminosae) in the Old World. Vols. 1-3. ***Natur historisches Museum Wien***, 2439 pp.
- Podlech, D., 1982. Neue Aspekte zur Evolution and Gliederung der Gattung *Astragalus* L. Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München **18**: 359-378.
- Podlech, D., 1983. Zur Taxonomie and Nomenklatur der tragacanthoiden *Astragali*. ***Mitt. Bot. Staatssamml.*** **19**:1-23.
- Podlech, D., 1984. Revision von *Astragalus* L. sect. *Herpocaulos* Bunge. ***Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung***, München.
- Podlech, D., 1986. Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of the Old World and south-west Asia. ***Proceedings of the Royal Society of Edinburgh***, **89**: 37-43
- Podlech, D., 1999. Papilionaceae III, *Astragalus* I. In: Rechinger KH (ed.) ***Flora Iranica***, Vol. 174. Graz, Austria: Akademische Druck- u. Verlagsanstalt.
- RoK. E., Keener C. S. and McPherson B.A., 1997. Molecular Phylogenetic Study of the Ranunculaceae: Utility of the Nuclear 26s Ribosomal DNA in Inferring Intrafamilial Relationships, ***Molecular Phylogenetics and Evolution***, **8**(2): 117.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning: A laboratory manual. ***Cold Spring Harbor Laboratory Press***, New York.
- Sanderson, M. J., 1991. Phylogenetic relationships within North American *Astragalus* L. (Fabaceae). ***Systematic Botany***, **16**: 414–430.
- Scherson, R. A., Vidal, R. ve Sanderson, M. J., 2008. Phylogeny, biogeography, and rates of diversification of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations. ***American Journal of Botany***, **95**(8): 1030-1039.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nicrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Sweere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.M., Gillespie, L.J., Kress, W.J., Sytsma, K.J., 1997. "Angiosperm Phylogeny Inferred from 18 S Ribosomal DNA Sequences" ***Ann. Missouri Bot. Garden***, **84**, 381.

- Townsend, C. C. and Guest, E., 1974. *Astragalus* L. In: Townsend CC, Guest E (eds.). *Flora of Iraq*, **3**: 231–442.
- Vandivier, L. E., Anderson, S. J., Foley, S. W., Gregory, B. D., 2016. The conservation and function of RNA secondary structure in plants. *Annual review of plant biology*, **67**: 463-488.
- White, T., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J., 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, PZR Protocols: A Guide to Methods and Applications, ed. Innis, M. A., Gelfand D. H., Sninsky, J. J., White T.J., *Academic Press*, New York, Pp:315.
- Wojciechowski, M. F., Sanderson, M. J. and Hu, J. M., 1999. Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA trnL intron data. *Systematic Botany*, 409-437.
- Wojciechowski, M.F., 2005. *Astragalus* (Fabaceae): A molecular phylogenetic perspective, *Brittonia*, **57**(4): 382-396.
- Wen, H. L., 1997. *Molecular Evolution*, Sinauer Associates, Inc, Kanada.
- Yilmaz H. • Karahan F.. Bulut Z.. Demircan N. • Alper H . • 2002. Kurak bölgelerde havza planlamasında bazı sekonder bitkilerin biyolojik onarım yönünden değerlendirilmesi. *Su Havzalarında Toprak ve Su Kaynaklarının Korunması. Gelistirilmesi ve Yönetimi Sempozyumu Bildiriler Kitabı*. 18-20 Eylül 2002, Antakya/Hatay.
- Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K. and Hasebe, M., 2000. Molecular Phylogeny of *Coriaria*, with Special Emphasis on the Disjunct Distribution, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **14**(1): 11.
- Zarre, S., 2000. Systematic revision of *Astragalus* sect. *Adiaspastus*, sect. *Macrophyllium* and sect. *Pterophorus*. **18** (18):3-219.
- Zarre, S., and Podlech, D., 1997. Problems in the taxonomy of tragacanthic *Astragalus*. *Sendtnera*, **4**:243-250.

ÖZGEÇMİŞ

Batman ilinde 1994 yılında doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Batman'da tamamladıktan sonra 2013 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne yerleşti. 2017 yılında adı geçen bölümden mezun oldu. Aynı yıl Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fitopatoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

