

MatK ve *trnH-psbA* Barkot Genleri Kullanılarak Bazı Bitki Taksonlarının Moleküler Olarak Sınıflandırılması*

Behcet İNAL¹, Mehmet KARACA^{2**}

¹Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Siirt, TÜRKİYE

²Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 27.11.2018

Kabul Tarihi/Accepted: 14.01.2019

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

orcid.org/0000-0003-2215-2710 orcid.org/0000-0003-3219-9109

**Sorumlu Yazar/Corresponding Author: mkaraca@akdeniz.edu.tr

Öz: Canlıların sınıflandırılması ve canlı birliklerine ait sınırların çizilmesi gözleme ve deneye dayalı sistemli bilgi üretmeye başlanmasıyla birlikte karşılaşılan en karmaşık problemlerden biri olmuştur. Bu amaçla araştırmacılar birçok kuram ve metot geliştirerek var olan canlı çeşitliliğini saptamaya çalışmışlardır. Çekirdek kökenli barkot bölgeleri, plastid kökenli barkot bölgelerine göre çok daha fazla bilgi içermesine karşın, tek lokus kullanılarak barkotlama yapıldığında, farklı bitki gruplarını karşılaştırabilmek için yeterli bilgiye sahip olunmamaktadır. Tüm bitki türlerinde kullanılabilecek tek bir barkot bölgesi henüz mevcut değildir ve bu nedenle farklı barkot bölgelerinin birlikte kullanılması, türlerin ayırt edilebilme gücünü arttırabilmektedir. Çalışmanın ana hedefi, bitki moleküler filogenetiğini konu alan çalışmalarda etkin olarak kullanılabilecek gen, gen bölgesi ve gen sayısını değerlendirmektir. Bu çalışmada, 15 farklı bitki ailesine ait toplam 60 bitki türüne ait filogenetik ilişkiyi değerlendirmek için *matK*, ve *trnH-psbA* barkot genler kullanılarak MAFFT (Multiple Alignment Using Fast Fourier Transform) yazılımı ile diziler hizalanmış ve Bayesian metodu ile konsensus filogenetik ağaç elde edilmiştir. Sonuçlar bitki moleküler filogenetik çalışmalarında *matK* gen dizilerinin *trnH-psbA* gen dizilerine göre daha yüksek ardıl olasılık değerli ağaç üretebildiğini göstermiştir. Ancak daha fazla genlerin çalışması ile olası filogenetik ilişki daha da iyi bir şekilde tahmin edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Filogeni, moleküler sistematik, biyoinformatik, barkot gen

Molecular Classification of Some Plant Taxa Using *MatK* and *trnH-psbA* Barcode Genes

Abstract: The classification of living creatures and the demarcation of living units have been one of the most complex problems encountered as a result of observing experimental and systematic information. For this purpose, researchers have tried to determine the diversity of living creatures by developing many theories and methods. Although the nuclear genome barcode regions contain much more information than the barcode regions of plastid, they do not have enough information to compare different plant groups when barcoding with a single locus. A single barcode region that can be used in all plant species is not yet available, and therefore, the use of different barcode regions may increase the distinguishing power of species. Main objective of this study was to determine gene, gene region and numbers of genes suitable for plant molecular phylogenetic studies. In this study, *matK*, and *trnH-psbA* barcode genes were used to evaluate the phylogenetic relationship of 60 plant species belonging to 15 different plant families. Sequences were aligned with MAFFT (Multiple Alignment Using Fast Fourier Transform) software and a consensus phylogenetic tree was constructed by the Bayesian method. Results indicated that *matK* gene was much more suitable in comparison to *trnH-psbA* region since the use of *matK* produced trees with higher posterior probability values. However, further studies clearly showed that increased number of genes produced much better phylogenetic estimations.

Keywords: Phylogeny, molecular systematics, bioinformatics, barcode gene

*: Bu çalışma; Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından kabul edilen birinci yazara ait "Bitki Moleküler Filogenisinde Kullanılan Bazı Gen ve Metodların Karşılaştırılması" isimli Yüksek Lisans Tez çalışmasının bir bölümünden üretilmiştir.

1. Giriş

Bitki moleküler sistematiği, özellikle son 20 yıldır hızla gelişmektedir (Wen ve ark., 1997). Bu gelişme DNA ve aminoasit dizi analizlerinin kullanılmasıyla ve yeni filogenetik analiz metodlarının bulunmasıyla (Ro ve ark., 2007) moleküler sistematiğe de katkı sağlamaya başlamıştır. Filogenetik bilgi açısından morfolojik karakterlerin yetersiz olduğu durumlarda dizi analizleri filogenetik analizler için çok faydalı olmaktadır (Yokoyama ve ark., 2000). Çünkü filogenetikçiler, genellikle dizilerin kendi filogenisinin organizmaların filogenisine çok yakın olduğunu düşünmektedirler. Dizi analiz yöntemleri canlıların coğrafik orijinlerinin bulunmasından canlıların filogenilerini moleküler olarak ispatlamaya kadar birçok alanda kullanılmaktadır (Allan ve ark., 2004; Cohen ve Weydman, 2005). Angiospermelerin moleküler filogenileri hakkında yapılan çalışmalarda genellikle kloroplast (plastid) (Graham ve Olmstead 2000), mitokondri genleri (Qui ve ark., 1999) veya çok tekrarlı nükleer ribozomal DNA (nrDNA) genleri kullanılmıştır.

Günümüze kadar bilinen yaklaşık 300000 bitki türü olduğu tahmin edilmektedir. Ancak klasik sistematik metodları kullanılarak bu bitkilerin oldukça az bir kısmı doğru bir şekilde teşhis edilebilmektedir (Hollingsworth ve ark., 2011; Li ve ark., 2015). Hâlihazırda 250 yıldan beri çeşitli çalışmalarda kullanılan klasik sistematik; “bireyler morfolojik olarak birbirlerine ne kadar çok benzerlik taşıyorsa o kadar yakın akrabadır” yaklaşımı kabul edilmektedir. Bu bağlamda “morfolojik tür” tanımı oldukça sübjektiftir. Taksonomik yaklaşımlar uygulanırken doğada hiçbir zaman türün meydana gelmediği, ancak bireyler ve popülasyonları meydana getirdiği dikkate alınmamaktadır. Bitki popülasyonlarında gen akışının oldukça sık meydana gelmesi, bireyler arasında ekolojik farklılıkların, melezlenmenin, epigenetiğin ve genetik sürüklenmenin etkilediği değişimlerin, türlerin morfolojik olarak sabit olamamasına tam tersi dinamik bir yapıya neden olduğu bilinmektedir. DNA barkotlama, genom üzerinde daha önceden belirlenmiş ya da teşhis edilmiş bölgelerde bulunan genelde kısa (600-1500 bp) DNA dizilerinden yola çıkarak takson/türlerin teşhis edilmesini sağlayan güvenilir bir teşhis tekniğidir (Lahaye ve ark., 2008). Bu yaklaşım, ayrıca teşhis etmesi nispeten zor canlı grupları arasındaki var olan filogenetik ilişkiyi de ortaya koyabilmektedir. Bitkiler aleminde, kloroplast organel genomundaki bölgelere örnek olarak, organel genler olan; *atpF-atpH*, *trnL*, *rbcL*, *ycf5*, *rpoC1*, *rpoB*, *psbA-trnH*, *psbK-psbI* ile nükleer (çekirdek) genomda bulunan Transkripsiyonu

Yapılan İç Ara Bölgeler (Internal Transcribed Spacer, ITS) gen bölgeleri bitki DNA barkot genleri arasından yaygın olarak kullanılanlarıdır (Kress ve Erickson, 2007; Ford ve ark., 2009; Phong ve ark., 2018). Daha önceki çalışmalara göre, *rbcL* + *matK* bileşiminden oluşan plastid barkot gen bölgeleri güvenilir ve uygulanabilir bitki barkot adayları olarak öne sürülmüştür (Hollingsworth ve ark., 2011). *MatK* gen bölgesi, yüksek substitüsyon oranına sahip olması, tüm üçlü kodonlarda hemen hemen eşit hızda substitüsyonların meydana gelmesini sağlar (Hilu ve Liang 1997; Hochbach ve ark., 2018). Ayrıca söz konusu bu genin sahip olduğu fazla substitüsyon hızı parsimonik anlamda bilgi içeriğine sahip bölgelerin oluşmasında ve güçlü filogenetik öngörülerin elde edilmesinde ve değişik takson düzeylerinde evrimsel geçmişin nasıl geliştiğini değerlendirmede önemli bir şekilde yol göstermektedir (Johnson ve Soltis, 1994). *MatK* 841 nükleotid uzunluğuna sahip olup moleküler bitki sistematiği çalışmalarında en çok uygulama yeri bulunan ve çalışmalar noktasında çeşitlilik gösteren kloroplast genomunda kodlama yapan bir bölge olarak bilinmektedir (Hilu ve Liang, 1997; Hochbach ve ark., 2018). Kodlama yapmayan genler arası organel genom bölgesi olan *trnH-psbA* plastid barkot belirteci, bitki moleküler sistematik çalışmalarında oldukça yaygın kullanılmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, *trnH-psbA* barkot geninin *Alnus*, *Quercus* ve *Salix* gibi taksonlarda *rbcL* + *matK* barkot gen bileşiminden daha etkili olduğu bulunmuştur (Piredda ve ark., 2010; Ren ve ark., 2010; Von Crautlein ve ark., 2011).

Bu çalışmada amaç, kloroplast organel genomuna ait barkot genler kullanılarak, 15 farklı bitki ailesine ait toplam 60 bitki türünde olası filogenetik ilişki ortaya çıkarmaktır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada materyal olarak, tek çenekli ve çift çenekli bitkilerden oluşan otsu, ağaçsı ve çalı formunda toplam 15 farklı aileden oluşan 60 bitki taksonu ve bunlara ait organel genom dizileri kullanılmıştır.

2.1. Gen ve ara bölge dizilerin elde edilmesi

Taksonlar arsındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek üzere, *matK* ve *trnH-psbA* genlerine ait diziler, NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanındaki “Batch Entrez” bağlantısı ile FASTA (Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm) formatında indirilmiş ve hard disk ortamına kayıt edilmiştir. Tablo 1’de bu dizilere ait Gene Bank Dizi Kimlik Numaraları (GI) gösterilmektedir. Çalışmaya dâhil edilen her bir takson iki tekrarlı olarak çalışılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan 60 taksona ait genlerin ve GI numaraları

Familya	Tür adı	matK	trnH-psbA
Anacardiaceae	<i>Rhus gueinzii</i> Sond.	167890190	167890911
Anacardiaceae	<i>Rhus gueinzii</i> Sond.	167890192	167890912
Anacardiaceae	<i>Rhus leptodictya</i> Diels	167890196	167890914
Anacardiaceae	<i>Rhus leptodictya</i> Diels	167890198	167890915
Anacardiaceae	<i>Rhus transvaalensis</i> Engl.	167890202	167890917
Anacardiaceae	<i>Rhus transvaalensis</i> Engl.	167890204	167890919
Apiaceae	<i>Heteromorpha arborescens</i> Cham. & Schldtl.	167890164	167890905
Apiaceae	<i>Heteromorpha arborescens</i> Cham. & Schldtl.	167890166	167890906
Apiaceae	<i>Steganotaenia araliacea</i> Hochst.	167890212	167890923
Apiaceae	<i>Steganotaenia araliacea</i> Hochst.	167890214	167890924
Arecaceae	<i>Hyphaene coriacea</i> Gaertn.	167890172	167890844
Arecaceae	<i>Hyphaene coriacea</i> Gaertn.	167890174	167890845
Arecaceae	<i>Hyphaene petersiana</i> Klotzsch ex Mart	167890180	167890848
Arecaceae	<i>Hyphaene petersiana</i> Klotzsch ex Mart	167890182	167890849
Asteraceae	<i>Brachylaena huillensis</i> O.Hoffm.	167890074	167890860
Asteraceae	<i>Brachylaena huillensis</i> O.Hoffm.	167890076	167890861
Combretaceae	<i>Combretum collinum</i> Fresen.	167890086	167890866
Combretaceae	<i>Combretum collinum</i> Fresen.	167890088	167890867
Combretaceae	<i>Combretum apiculatum</i> Sond.	167890080	167890863
Combretaceae	<i>Combretum apiculatum</i> Sond.	167890082	167890864
Euphorbiaceae	<i>Croton megalobotrys</i> Müll.Arg.	167890102	167890875
Euphorbiaceae	<i>Croton megalobotrys</i> Müll.Arg.	167890104	167890876
Euphorbiaceae	<i>Croton gratissimus</i> Burch	167890096	167890872
Euphorbiaceae	<i>Croton gratissimus</i> Burch	167890098	167890873
Fabaceae	<i>Acacia tortilis</i> Hayne	167890060	167890855
Fabaceae	<i>Acacia tortilis</i> Hayne	167890062	167890856
Loganiaceae	<i>Strychnos decussata</i> (Pappe) Gilg	167890220	167890926
Loganiaceae	<i>Strychnos decussata</i> (Pappe) Gilg	167890221	167890927
Loganiaceae	<i>Strychnos madagascariensis</i> Spreng. ex Baker	167890223	167890929
Loganiaceae	<i>Strychnos madagascariensis</i> Spreng. ex Baker	167890225	167890930
Malvaceae	<i>Grewia flavescens</i> Juss.	167890152	167890900
Malvaceae	<i>Grewia flavescens</i> Juss.	167890154	167890901
Malvaceae	<i>Grewia bicolor</i> Juss.	167890146	167890897
Malvaceae	<i>Grewia bicolor</i> Juss.	167890148	167890898
Moraceae	<i>Ficus abutilifolia</i> Miq	167890128	167890888
Moraceae	<i>Ficus abutilifolia</i> Miq	167890130	167890889
Moraceae	<i>Ficus glumosa</i> Delile	167890134	167890891
Moraceae	<i>Ficus glumosa</i> Delile	167890136	167890892
Myrothamnaceae	<i>Myrothamnus flabellifolia</i> Welw.	167890184	167890908
Myrothamnaceae	<i>Myrothamnus flabellifolia</i> Welw.	167890186	167890909
Orchidaceae	<i>Clowesia warczewiczii</i> (Lindl. & Paxton) Dodson	167889940	167890789
Orchidaceae	<i>Clowesia warczewiczii</i> (Lindl. & Paxton) Dodson	167889942	167890790
Orchidaceae	<i>Encyclia alata</i> (Bateman) Schltr.	167889960	167890799
Orchidaceae	<i>Encyclia alata</i> (Bateman) Schltr.	167889962	167890800
Orchidaceae	<i>Ponthieva racemosa</i> (Walter) C.Mohr	167890008	167890823
Orchidaceae	<i>Ponthieva racemosa</i> (Walter) C.Mohr	167890010	167890824
Orchidaceae	<i>Prosthechea fragrans</i> (Sw.) W.E.Higgins	167890016	167890828
Orchidaceae	<i>Prosthechea fragrans</i> (Sw.) W.E.Higgins	167890018	167890829
Orchidaceae	<i>Stanhopea saccata</i> Bateman	167890032	167890836
Orchidaceae	<i>Stanhopea saccata</i> Bateman	167890034	167890837
Orchidaceae	<i>Trichopilia tortilis</i> Lindl.	167890036	167890838
Orchidaceae	<i>Trichopilia tortilis</i> Lindl.	167890038	167890839
Proteaceae	<i>Faurea rochetiana</i> Chiov. ex Pic.Serm.	167890116	167890882
Proteaceae	<i>Faurea rochetiana</i> Chiov. ex Pic.Serm.	167890118	167890883
Proteaceae	<i>Faurea saligna</i> Harv.	167890122	167890885
Proteaceae	<i>Faurea saligna</i> Harv.	167890124	167890886
Solanaceae	<i>Solanum panduriforme</i> Drège ex Dunal	167890206	167890920
Solanaceae	<i>Solanum panduriforme</i> Drège ex Dunal	167890208	167890921
Velloziaceae	<i>Xerophyta retinervis</i> Baker	167890236	167890936
Velloziaceae	<i>Xerophyta retinervis</i> Baker	167890238	167890937

2.2. Dizilerin analizi

Çoklu alignment (hizalama) çalışmaları için çoklu hizalama programlarından en yaygın olan "Multiple Alignment with Fast Fourier Transform" (MAFFT) yazılım programı kullanılmıştır. Hizalama çalışmaları için iki farklı algoritmadan yararlanılmıştır. Birinci algoritmada MAFFT programının varsayılan "default" ve ikinci algoritma olarak ise tekrar sayıları, boşluk uzunlukları ve boşluk uzunluk kısıtlamaları değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları Nexus formatına dönüştürülmüştür (İnal ve ark., 2017).

2.3. Filogenetik analiz çalışmaları

Çalışmada, MrBayes v.3.1.2 (Ronquist ve Huelsenbeck, 2003) yazılım programı kullanılmış olup; filogenetik ağaçların tahmini için ardıl olasılık (posterior) istatistiksel yaklaşım kullanan, Bayesian yönteminden faydalanılmıştır. Filogenetik çalışmalarda, GTR (Generalised Time Reversible) SBT (Sabitasyon) modeli kullanılmıştır. Filogenetik ağaç tahmininde Markov Zinciri Monte Carlo (MCMC) yöntemi kullanılmıştır. Verilerden en iyi topolojileri elde etmek için, bölünmüş frekansın ortalama standart sapması 0.05 değerinin altına indiği ana kadar simüle edilmiştir. Ortalama standart sapmanın düşük olması, analizin güvenilir olduğunu da göstermektedir.

2.4. Filogenetik ağaçların elde edilmesi

Çalışmada konsensus ağaçlar FigTree 1.3.1 programı ile görselleştirilmiştir ve daha sonra PhotoShop programıyla renklendirme ve harflendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ağaçların nodlarında ardıl olasılık (posterior probability) değerleri % 50 ve daha fazla olanlar önemli, küçük olan değerler ise önemsiz ilişki olarak değerlendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada bitki moleküler filogenetiğini konu alan çalışmalarda etkin olarak kullanılacak gen, gen bölgesi, gen sayısı için filogenetik analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Elde edilen filogenetik ağaçların ardıl olasılık (posterior probability) değerleri yüksek olarak olan gen, gen bölgesi veya gen sayısı tespit edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde çalışmada ele alınan verileri en doğru şekilde ilişkilendiren MAFFT programı olduğundan bu çalışmada sadece MAFFT ile elde edilen sonuçlar verilmiştir (İnal ve ark., 2017; Yang ve ark., 2018).

Çalışmada her bir gen için ayrı filogenetik ağaçlar elde edilmiş ve bunlar Şekil 1a ve 1b'de gösterilmiştir. Gen sayılarının etkilerini belirlemek

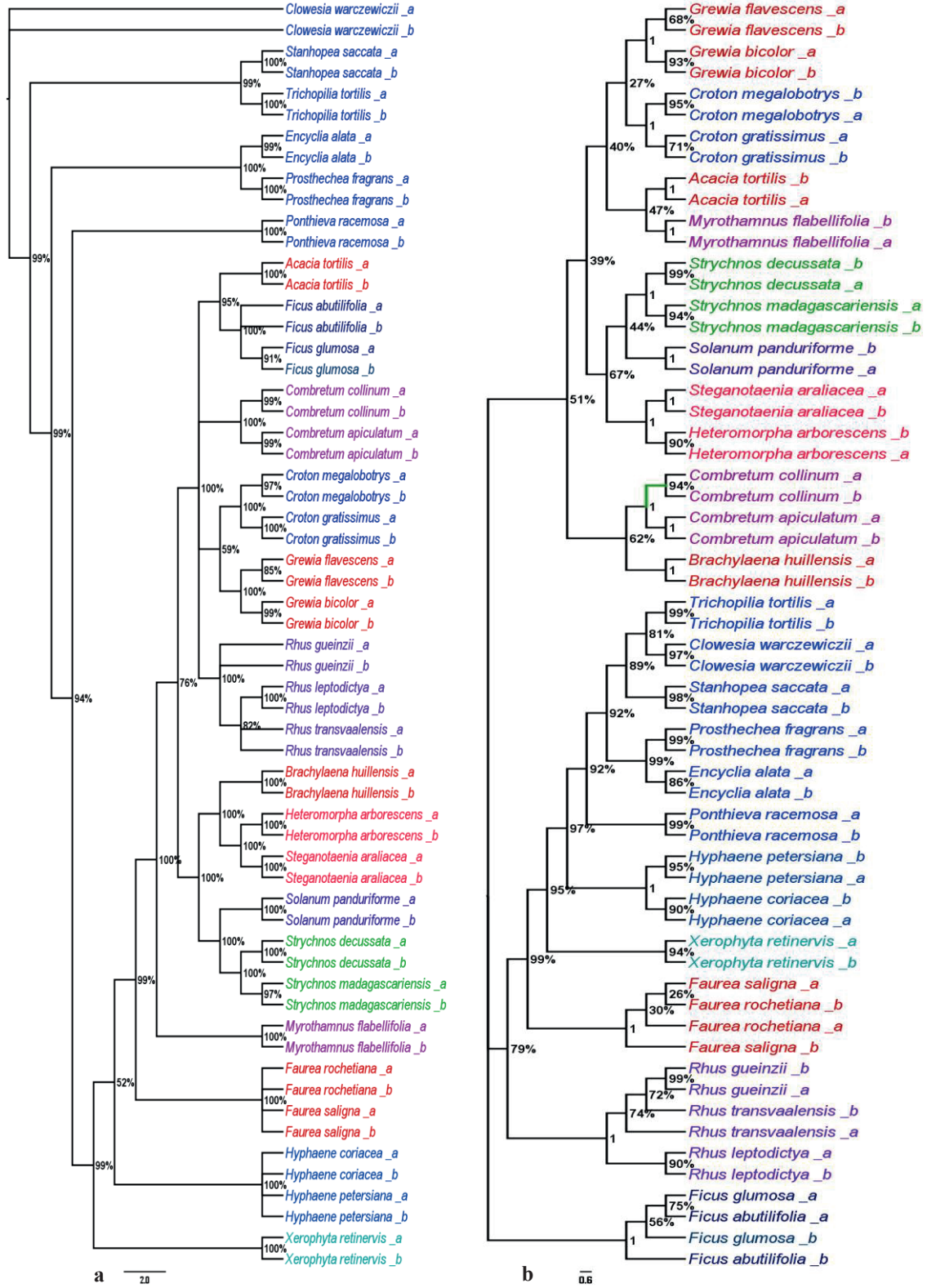
için ise her iki gen birlikte değerlendirilmiştir. *matK* geninin analiz sonucu ortaya koyduğu ağaç topolojisinde; *Acacia*, *Ficus*, *Combretum*, *Croton*, *Grewia*, *Rhus* cinslerinin kendi içinde % 100 ardıl olasılık değeriyle desteklediği görülmüştür. *Brachylaena*, *Heteromorpha*, *Steganotaenia*, *Solanum* ve *Strychnos* cinslerinin kendi içinde % 100 ardıl olasılık değeriyle desteklediği görülmüştür. Bu iki grup ayrı değerlendirildiğinde ise birbirlerinden % 76 ardıl olasılık değeriyle desteklenmiştir (Şekil 1a).

Bu iki gruba daha sonra *Myrothamnus* ve *Faurea* cinslerinin yüksek ardıl olasılık (% 100 ve % 99) değerleri ile bağlanmış olduğu tespit edilirken, *Hyphaene* ve diğer cinsler sadece % 52 ardıl olasılık değeriyle bağlanabilmişlerdir (Şekil 1a). Çalışmada kullanılan diğer cinslerden *Stanhopea* ve *Trichopila* % 99, *Encyclia* ve *Prosthechea* % 100, bu cinslerin oluşturduğu grup ise *Ponyhievea* cinsine % 99 ardıl olasılık değeriyle bağlanmışlardır (Şekil 1a).

Sonuçlar değerlendirildiğinde *matK* genine ait ağaç topolojisinde, çalışmada kullanılmış olan 15 ailenin ve cinsin tümü kendi aralarında uyumlu bir şekilde kümelenmiştir. Oluşan kümeler yüksek ardıl olasılık değeriyle desteklenmiştir. Ayrıca monokotil (tek çenekli) bitki grubunu oluşturan *Orchidaceae*, *Arecaceae*, *Velloziaceae* ailelerini % 100 bir ardıl olasılık desteği ile bir arada göstermiştir. Ancak, *Proteaceae* ailesine ait *F. rochetina* türünü ve *Arecaceae* ailesine ait *H. coriacea* türlerini polifiletik göstermiş olup kardeş türleri ile tek kümede olacak şekilde göstermemiştir.

Şekil 1b'de *trnH-psbA* genleri arasındaki bölgenin analizi sonucu elde edilen ağaç topolojisi verilmiştir. Konsensus ağacında cinsler üç ana gruba ayrılmış olup, *Ficus* cinsini temsil eden iki türün altı bireyi de çalışmada kullanılan bütün cinslerden ayrılmıştır. *trnH-psbA* genleri arasındaki bölgenin kullanılmasıyla bu cins içerisindeki iki türü temsil eden örnekler arasındaki filogenetik ilişki doğru olarak ortaya konulamamıştır. *Rhus* cinsinin altı bireyi, *Faurea* cinsinin dört bireyi, *Hyphaene* cinsinin dört bireyi, *Combretum* cinsinin dört bireyi, *Strychnos* cinsinin dört bireyi, *Croton* ve *Grewia* cinsinin dörder bireyi kendi aralarında gruplandırılmıştır. Gruplamalardaki ardıl olasılık değeri oldukça yüksek ve ilişkiler de beklenen düzeyde elde edilmiştir. İlişkilerin bir kısmının ardıl olasılık değerleri ellinin altında çıkmıştır (Şekil 1b).

trnH-psbA topolojisinde aileler uyumlu olacak şekilde bir arada kümeleşmişlerdir. Ayrıca monokotil bitki grubunu oluşturan *Arecaceae*, *Velloziaceae*, *Orchidaceae* aileleri % 95 ardıl



Şekil 1. a) *matK* geni konsensus filogenetik ağacı. MAFFT programının 1. parametresi ile hizalanmış *matK* gen dizisinin GTR SBT modelindeki Bayes analizi*; b). *trnH-psbA* intergenik bölgenin konsensus filogenetik ağacı. MAFFT programının 1. parametresi ile hizalanmış *trnH-psbA* gen sekansının GTR SBT modelindeki Bayesian analizi**

*: Nodlarda bulunan yüzde değerler ardıl olasılık değerleridir; **: Nodlarda bulunan yüzde değerler ardıl olasılık değerleridir. Nodlarda 1 ile gösterilen rakamlar % 100 ardıl olasılık değerleridir.

olasılık değeri desteği ile bir arada göstermiştir. Cins ve tür bazında büyük oranda bir monofiletiklik görülmüştür (Şekil 1b).

Çalışmanın hedeflerinden olan gen sayısının filogenetik çalışmalarda önemliliğini ortaya koymak için her iki gen bölgesinin birlikte kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde; her iki genin birlikte kullanılmasıyla ardıl olasılık değerinde artışın olduğu, diğer taraftan da bazı cinsler arasındaki ilişkinin daha net olarak ortaya konulduğu görülebilmektedir. Çalışmada elde edilen türlere ait akrabalık ilişkilerinin tam olarak ortaya konulabilmesi için daha fazla çalışmanın gerekliliği açık olmakla birlikte, gen sayısının filogenetik çalışmalarda önemli olduğu, fazla gen dizileri kullanarak yapılan tahminlerin daha gerçekçi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, bu çalışma kapsamında *matK* ve *trnH-psbA* genlerinin markır gen olma başarılarının birbirine çok yakın olduğu görülmüştür. İkisi de biri ortak, iki familya bir polifiletiklik göstermiştir. Ancak *matK* geni monokotil gruplarını % 100 ardıl olasılık desteği ile bir arada göstermişken *trnH-psbA* geni ise bu grupları % 95 ardıl olasılık desteği ile bir arada göstermiştir. Önceki çalışmalarda *trnH-psbA* geninin karasal bitkiler için uygun bir markır geni olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda daha önce yapılmış bir çalışmada *trnH-psbA* ve *matK* gen bölgelerinin türleri birbirinden ayırmada başarılı olduğunu belirtmişlerdir (Krees ve ark., 2007; Lahaye ve ark., 2007; Lei ve ark., 2018; Yang ve ark., 2018).

4. Sonuçlar

Filogenetik Sistematik taksonomiye filogenetik yönüyle inceleyen alandır. Bir takson ya da takson grubunun filogenilerinin belirlenmesi demek, zamansal olarak (önce-sonra) onların birbiri ile ve diğer taksonlarla ortak ata temelinde durumlarının ortaya konması demektir. Günümüzde filogeninin bitki taksonomi açısından zorunluluğu hemen hemen tüm sistematikçiler tarafından kabul edilmektedir. Bu çalışmada sonuç olarak, bitki moleküler filogenetiğini konu alan çalışmalarda etkin olarak kullanılan gen, gen bölgesi, gen sayısı, genin hücresel lokasyonunun önemli olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, gen veya genlerin dizilerini hizalamada kullanılan birden çok algoritmaların kullanılması elde edilen filogenetik ağacın çok daha güvenilir ve tutarlı sonuçlar vereceği bulunmuştur. Buna bağlı olarak hizalanmış verileri ağaç oluşturmak için kullanan yaygın filogenetik analiz yöntemlerin kullanılmasının önemli olduğu bulunmuştur. Çalışmada hedeflenen amacın daha kapsamlı olması için bundan sonraki çalışmaların,

kullanılacak dizilerin kaliteli olduğundan emin olunduktan sonra, takson sayısı daha da genişletilmelidir. Ayrıca, hizalama yazılım programlarının daha da geliştirilmişleri ele alınıp kullanılacak parametre spektrumu oldukça geniş tutulmalıdır.

Teşekkür

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “2011.02.0121.002” No’lu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- 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.
- Cohen, B.L., 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 & Evolution*, 5(4): 253-273.
- Ford, C., Ayres, K., Toomey, N., Haider, N., Stahl, J., Kelly, L., Wikstrom, N., Hollingsworth, P., Duff, R., Hoot, S., Cowan, R., Chase, M., Wilkinson, M., 2009. Selection of candidate coding DNA barcoding regions for use on land plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 159(1): 1-11.
- Graham, S.W., Olmstead, R.G., 2000. Utility of 17 Chloroplast genes for inferring the phylogeny of the basal angiosperms. *American journal of Botany*, 87(11): 1712-1730.
- Hilu, K.W., Liang, H., 1997. The *matK* gene: sequence variation and application in plant systematics. *American Journal of Botany*, 84(6): 830-839.
- Hochbach, A., Linder, H.P., Röser, M., 2018. Nuclear genes, *matK* and the phylogeny of the Poales. *Taxon*, 67(3): 521-536.
- Hollingsworth, P.M., Graham, S.W., Little, D.P., 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS ONE*, 6(5): e19254.
- İnal, B., Aydın, A., İnce, A.G., Karaca, M., 2017. Genetic relationships among continental cotton species based on ITS1 gene region aligned with different alignment tools. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 1(2): 1-6.
- Johnson, L.A.N., Soltis, D.E., 1994. *matK* DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Systematic Botany*, 19(1): 143-156.
- Kress, W.J., Erickson, D.L., 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS One*, 2(6): e508.

- Lahaye, R., Bank, M.V.D., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T.G., Savolainen, V., 2007. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Pnas*, 105(8): 2923-2928.
- Lahaye, R., Van Der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Savolainen, V., 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8): 2923-2928.
- Lei, Y.X., Liu, J., Fan, X., Sha, L.N., Wang, Y., Kang, H.Y., Zhang, H.Q., 2018. Phylogeny and maternal donor of *Roegneria* and its affinitive genera (Poaceae: Triticeae) based on sequence data for two chloroplast DNA regions (ndhF and trnH-psbA). *Journal of Systematics and Evolution*, 56(2): 105-119.
- Li, X., Yang, Y., Henry, R.J., Rossetto, M., Wang, Y., Chen, S., 2015. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biological Reviews*, 90(1): 157-166.
- Phong, D.T., Hien, V.T.T., Lieu, T.T., 2018. Nucleotide diversity of 15 conifer species in vietnam's central highlands based on the analysis of ITS, trnH-psbA, matK, trnL and rpoC1 gene regions. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56(1): 47-63.
- Piredda, R., Simeone, M.C., Attimonelli, M., Bellarosa, R., Schirone, B., 2010. Prospects of barcoding the Italian wild dendroflora: oaks reveal severe limitations to tracking species identity. *Molecular Ecology Resources*, 11(1): 72-83.
- Qui, Y.L., Lee, J.H., Bernasconi-Quadroni, F., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Zanis, M., Zimmer, E.A., Chen, Z.D., Savolainen, V., Chase, M.W., 1999. The earliest angiosperms, evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature*, 402: 404-407.
- Ren, B.Q., Xiang, X.G., Chen, Z.D., 2010. Species identification of *Alnus* (Betulaceae) using nrDNA and cpDNA genetic markers. *Molecular Ecology Resources*, 10(4): 594-605.
- Ro, K.E., Keener, C.S., 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): 117-127.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J., 2003. MrBayes 3: bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572-1574.
- Von Crautlein, M., Korpelainen, H., Pietilainen, M., Rikkinen, J., 2011. DNA barcoding: a tool for improved taxon identification and detection of species diversity. *Biodiversity and Conservation*, 20(2): 373-389.
- Wen, J., Vanek-Krebitz, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Scheiner, O., Breiteneder, H., 1997. The potential of betv1 homologues, a nuclear multigene family, as phylogenetic markers in flowering plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8(3): 317-333.
- Yang, Z., Zhao, T., Ma, Q., Liang, L., Wang, G., 2018. Comparative genomics and phylogenetic analysis revealed the chloroplast genome variation and interspecific relationships of *Corylus* (Betulaceae) species. *Frontiers in Plant Science*, 9: 927.
- Yokoyama, J., Suzuki, M., Iwatsuki, K., Hasebe, M., 2000. Molecular phylogeny of *Coriaria*, with special emphasis on the disjunct distribution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(1): 11-19.