

Ordu ilinde bulunan bazı *Rubus* (Rosaceae) türlerinde *trnL-F* gen bölgeleri ile filogenetik ilişkilerin belirlenmesi

Onur KOLÖREN¹, Seçil EKER¹

¹Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ordu

Alınış tarihi: 16 Ekim 2019, Kabul tarihi: 24 Eylül 2020
Sorumlu yazar: Seçil EKER, e-posta: secileker@odu.edu.tr

Öz

Bu çalışmada; Ordu ilinde yaygın bulunan yabancı *Rubus* türlerinin filogenetik farklılıkları *trnL-F* gen bölgeleri kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Ordu'nun farklı noktalarından 24 adet *Rubus* spp. örneği toplanmıştır. Örneklerden DNA izolasyonu Haymes'in (1996) geliştirdiği izolasyon protokolü uygulanarak yapılmıştır. Örneklerin *trnL-F* gen bölgesini belirlemek için, GenBank'tan alınan referans diziler ile çalışmanın sekans dizileri karşılaştırılmıştır. MEGA6 paket programı yardımıyla genetik uzaklıklar hesaplanmış ve filogeni ağacı oluşturulmuştur. Örneklerden 6 haplotip sonucu çıkmıştır. Bunlar; *R. sanctus* (EF055343), *R. silvaticus* (KM036881), *R. divaricatus* (KM036924), *R. conothyrsoides* (KM036856), *R. capricollensis* (KM036923) ve *Rubus* sp. (KT581217) ile %100 nükleotid dizisi benzerliğiyle akraba olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: DNA, gen bölgesi, haplotip, Karadeniz Bölgesi, *Rubus* spp.

Determination of phlogenetic relationships with *trnL-F* gene regions of *Rubus* (Rosaceae) species in Ordu province

Abstract

In this study; the phylogenetic differences of some *Rubus* genotypes naturally grown in Ordu province in Black Sea Region were tried to be determined by using *trnL-F* gene regions. 24 *Rubus* spp. were collected with a survey. Haymes (1996) DNA isolation protocol was used with little modification to isolate the DNAs from the samples. In order to determine the *trnL-F* gene region of our samples, the

reference sequences from GenBank were compared with the sequences obtained in our study. Genetic distances were calculated with the help of MEGA6 package program and phylogeny trees were drawn. The samples were categorized in 6 Haplotype. These; Haplotype 1 (F3, P1, P3, P4, U1, U2, O2, O3, O4, CM1), Haplotype 2 (F5), Haplotype 3 (P2), Haplotype 4 (P5), Haplotype 5 (S1, CM2, CM3), Haplotype 6 (O1, CT1, CT2, CT3), respectively, *R. sanctus* (EF055343), *R. silvaticus* (KM036881), *R. divaricatus* (KM036924), *R. conothyrsoides* (KM036856), *R. capricollensis* (KM036923) and *Rubus* sp. (KT581217).

Key words: Black Sea Region, DNA, haplotype, intergenic spacer, *Rubus* spp.

Giriş

Rubus spp. cins içinde 12 adet alt cins mevcuttur (Kurt ve ark., 2003). Çalı şeklinde çok yıllık otsu bitkilerdir. Gövde genellikle dikenlidir ve türlere bağlı olarak 50 cm'den 200 cm'ye kadar büyüebilir. Rosoideae, yumuşak meyveler de dahil olmak üzere bir dizi ekonomik öneme sahip olan Rosaceae'nın bir alt familyasıdır. Bu türler; çilek (*Fragaria* spp.), kırmızı ahududu (*Rubus idaeus*) ve siyah ahududu (*R. occidentalis*), böğürtlen (*Rubus* spp.) ve ekonomik açıdan en önemli kesme çiçek cinslerinden biri olan güllerdir (*Rosa* spp.) (Longhi ve ark., 2014). İlk kez Avrupa'da tanımlanmış olan böğürtlen, çoğu kültür bitkisinde ve yol kenarlarında bulunmaktadır (Uygur ve ark., 2001; Yonat ve Kolören, 2017; Sezer ve Kolören, 2019). Son yıllarda vitamin, mineral ve antioksidan kapasitesi bakımından zengin olması nedeniyle böğürtlen meyvesine olan ilgi artırmıştır (Ateş, 1993; Anonim, 2009). Böğürtlen; ılıman iklim meyve türü olmasına rağmen yetiştiriciliği subtropik

iklim bölgelerinde de yapılabilir. Bu durum böğürtlenlerin değişik iklim şartlarına kolay bir şekilde adapte olduğunu göstermektedir (Göktaş, 2011). Ülkemizin birçok farklı bölgesinin doğal florasında özellikle Karadeniz sahil ve geçiş bölgelerinde yaygın olarak yetişmektedir. Bu türün yabancı formları ülkemizin diğer bölgelerinde geniş alanlarda ve yoğun olarak bulunmaktadır (Onur, 2006). Doğadaki yabancı tür ve varyetelerin toplanması ve moleküler düzeyde tanımlanması ekonomik değeri olan çeşitlere yeni ve üstün özellikler kazandırılması açısından önemlidir (Bothmer ve ark., 1991). Son yıllarda yaygın olarak kullanılan DNA taksonomisi, biyolojik çeşitliliğin ve türlerin belirlenmesinde yeni ve yararlı bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır (Filiz ve Koç, 2011), özellikle ITS ve Kloroplast *trnL-F* gen bölgeleri kullanılarak bitkiler arasındaki filogenetik ilişkiler belirlenmektedir (Soejima ve Nagamasu, 2004; Guoye ve ark., 2016; Eker ve Kolören, 2017; Kolören ve Eker, 2018). Bu çalışmanın amacı Ordu ilinde bulunan 24 *Rubus* türünün filogenetik ilişkilerini *trnL-F* gen bölgelerini kullanarak farklı türler olup olmadığını belirlemektir.

Materyal ve Metod

Bitkisel materyal

Ordu'dan toplanan *Rubus* örneklerinin filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanan çalışmada 24 adet bitki örneği buz kutuları yardımıyla laboratuvara getirilmiş ve -80 °C'de korunmuştur. Örnekler fındık bahçelerinden belirli uzaklıklardan rastgele toplanmıştır. Örneklerin coğrafik konumları kayıt altına alınmıştır (Çizelge 1).

DNA izole etme ve Polimeraz Zincir Reaksiyon aşamaları (PZR)

Örneklerin DNA izolasyonu Haymes'in (1996) geliştirdiği mini prep DNA izolasyon protokolünde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonunun 25 µl hacminin içindekiler; 1×PZR buffer, 10 mM dNTPs, 2.5mM MgCl₂, primerler 10 mM *trnL-c* ve 10 mM *trnF-f* (Çizelge 2), 5U Taqpolymerase (ThermoScientific, Maxima Hot Start). PZR döngü parametreleri; 95°C'de 15 dk, sonra 35 döngü; 94°C'de 1 dk, 51°C'de 1dk ve 72°C'de 2 dk ve son olarak 72°C'de 10 dk inkübe yapılmıştır. PZR ürünleri % 1.5'lük agaroz jel TAE buffer'da (0.04 M Tris-acetate, 1mM EDTA, Ph=8) 100 V akımda 60 dk boyunca elektroforez edilmiştir. Jelin görüntülenmesi Quantum ST5 (Vilber Lourmat) jel dokümantasyon sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. *Rubus* spp. örneklerinin coğrafik konumları

Örnek No	Yer	Paralel	Meridyen
1	CT1	40°52',56"	37°27',21"
2	CT2	40°53',30"	37°27',35"
3	CT3	40°53',08"	37°29',09"
4	CT4	40°53',06"	37°29',10"
5	U1	41°10',22"	37°39',54"
6	U2	41°14',25"	37°16',46"
7	CM1	40°54',47"	37°28',28"
8	CM2	40°56',08"	37°29',11"
9	CM3	40°56',47"	37°29',47"
10	F1	40°57',34"	37°30',09"
11	F2	40°58',13"	37°30',19"
12	F3	40°57',59"	37°30',16"
13	F4	40°58',39"	37°29',42"
14	F5	40°58',26"	37°28',31"
15	P1	41°01',14"	37°49',34"
16	P2	41°01',15"	37°49',35"
17	P3	41°03',09"	37°47',01"
18	P4	41°06',51"	37°46',50"
19	P5	41°06',49"	37°42',15"
20	O1	40°58',17"	37°57',17"
21	O2	40°56',35"	37°53',22"
22	O3	40°54',18"	37°49',42"
23	O4	40°55',37"	37°52',58"
24	S1	40°93',23"	37°97',68"

Çizelge 2. PZR aşamalarında kullanılan primerlerin bilgileri

Primerler	Baz dizileri
<i>trnL-c</i>	5' CGAAATCGGTAGACGCTACG 3'
<i>trnF-f</i>	5' ATTTGAACCTGGTGACACGAG 3'

Sekans analizi ve filogeni ağacı

PZR ürünleri ve *trnL-c*, *trnF-f* primerleri sekans analizi Macrogen (Amsterdam-Hollanda) firmasında yaptırılmıştır. Elde edilen genetik verilerin ham dizileri, BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak işlenmiş ve ClustalW (Thompson ve ark., 1997) programı yardımıyla, GenBank'tan elde edilen referans türlerin (Çizelge 3) sekans dizileriyle karşılaştırılmıştır. Filogeni ağaçları Neighbor-Joining (NJ; Saitou ve Nei, 1987), Maximum-Parsimony (MP; Eck ve Dayhoff, 1966; Fitch, 1977) ve Maximum-Likelihood (ML) algoritmaları Tamura ve ark. (2013) tarafından yapılan MEGA6 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Bulgular ve Tartışma

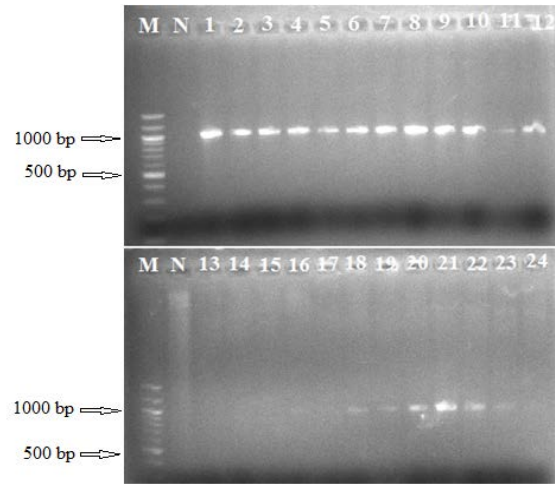
Şekil 1'deki jel görüntülerinde Fatsa 3-F3, Fatsa 5-F5, Perşembe 3-P3, Perşembe 4-P4, Perşembe 5-P5, Ordu 1-O1, Saraycık 1-S1, Çamaş 2-CM2, Çamaş 3-CM3, Ünye 2-U2, Çatalpınar 1-CT1, Çatalpınar 2-CT2 Perşembe 1-P1, Perşembe 2-P2, Ordu 2-O2, Ordu 3-O3, Ordu 4-O4, Çamaş 1-CM1, Ünye 1-U1 ve Çatalpınar 3-CT3 örnekleri *Rubus* türü olarak tespit edilmiştir. Örneklerden 6 Haplotip elde edilmiştir,

Çizelge 3. *Rubus* spp. türlerinin Genbank'tan alınan referans numaraları

Referans No	Tür Adı
KM036856	<i>Rubus conothyrsoides</i>
KT581217	<i>Rubus</i> sp.
KM036881	<i>Rubus silvaticus</i>
EF055343	<i>Rubus sanctus</i>
KM036924	<i>Rubus divaricatus</i>
KM036923	<i>Rubus capricollensis</i>
KM037139	<i>Rubus praecox</i>
KM036935	<i>Rubus rhamnifolius</i>
KF977458	<i>Rubus allegheniensis</i>
AY818230	<i>Rubus hirsutus</i>
KM037172	<i>Rubus odoratus</i>

Bunlar; Haplotip 1 (F3, P1, P3, P4, U1, U2, O2, O3, O4, CM1) *R. sanctus*'a (EF055343) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %87, %90 ve %88 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 2 (F5) *R. silvaticus*'a (KM036881) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu ML ağacındaki %80 algoritma değeri ile destek görmüştür. Haplotip 3 (P2) *Rubus* sp.'ye (KT581217) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ ve ML ağaçlarındaki %98 ve %98 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 4 (P5) *R. divaricatus*'a (KM036924) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %65, %64 ve %66 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 5 (CM2, CM3, S1) *R. conothyrsoides*'e (KM036856) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu ML ağacındaki %80 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 6 (O1, CT1, CT2, CT3) *R. capricollensis*'e (KM036923) yakın akraba bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %65, %64 ve %66 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Referans *Rubus* türleri ile çalışmamızdan çıkan haplotiplerin aralarındaki filogenetik ilişki (Çizelge 4) ve genetik mesafeler (Şekil 2) aşağıda bildirilmiştir. Amsellem ve ark., (2000), *R. alceifolius*'un genetik çeşitliliğini amplifiye fragman uzunluğu (AFLP) yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. Güneydoğu Asya'da ve çeşitli bölgelerde doğal varlığı ile tanınan bu bitki şimdilerde Hint Okyanusu Adaları ve Avustralya'da ciddi bir yabancı ot olarak belirlenmiştir. Kendi doğal aralığında, *R. alceifolius* popülasyonları Kuzey Vietnam'dan Java'ya kadar coğrafi olarak büyük genetik değişkenlik göstermektedir. Madagaskar'da ise genetik değişkenlik biraz daha düşük bulunmuştur. Hint Okyanusu'nda ki adalardan örneklenen her nüfus tek bir genotip ile karakterize edilirken, aralarından sadece *R. alceifolius*

Madagaskar bireyleri ile yakın ilişkili bulunmuştur. Bu sonuçlardan dolayı *R. alceifolius*'un Madagaskar'a ilk kez girmiş olduğunu belirtmişlerdir. Ericksson ve ark., (2003), Rosoideae familyasından 44 bitki örneğinin *trnL-F* ve ITS gen bölgelerini araştırmışlardır. Çalıştıkları örnekler arasından şu filogenetik tanımlamalara yer vermişlerdir: Sanguisorbeae ve onun altkümeleri Agrimoniinae ve Sanguisorbinae, Potentilleae ve onun altkümeleri Fragariinae ve Potentilla, Roperculina (*Rosa* + Sanguisorbeae + Potentilleae) ve Sanpotina (*Sanguisorbeae* + Potentilleae). Kullandıkları Duchesnea (*Potentilla indica*), Horkelia ve Ivesia cinslerinin, Potentilla'da olduğu öngörülmüştür. Potter ve ark., (2007), Rosaceae cinsine ait olduğu bilinen 88 örnekte filogenetik ilişki bakarken, *trnL-trnF* ve birçok daha gen bölgesi kullanarak araştırmışlar ve sonuç olarak Rosaceae'yi üç alt familya halinde belirtmişlerdir: Rosoideae, Dryadoideae ve Spiraeoideae. Dizkırıcı ve ark., (2016), Van İlinde bulunan Orkide (*Orchis*) cinsine ait 9 türün filogenetik ilişkisini *trnL* intron ve *trnL-F* IGS bölgelerini kullanarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucu olarak, *Anacamptis* ve *Neotinea* altcinslerinde bulunan türlerin taksonomik pozisyonunun değiştirilerek cins seviyesine çıkarılması gerektiğini bildirmişlerdir.



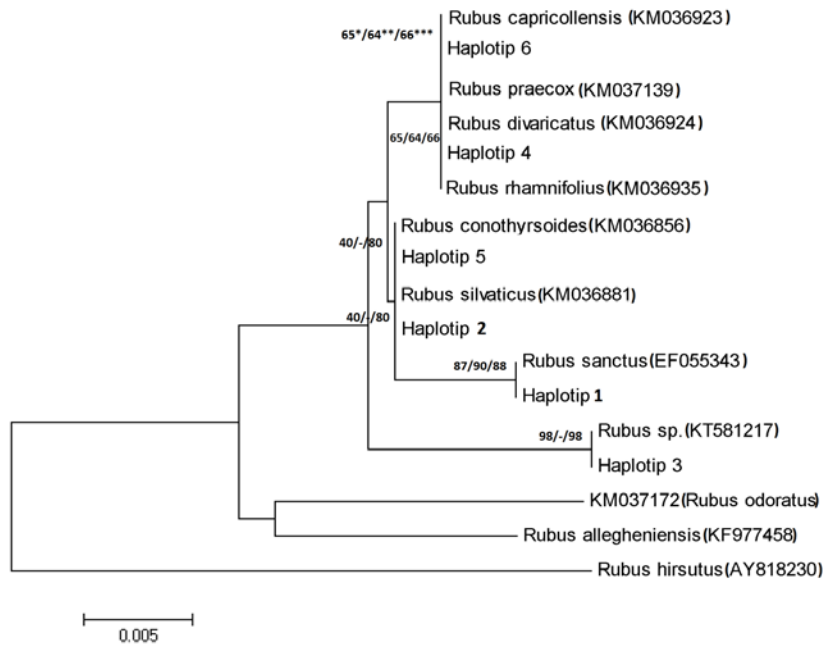
Şekil 1. *Rubus* spp. örneklerimizin *trnL-F* gen bölgelerinin agaroz jel içinde görüntüsü. Kuyucuk M: 100bp (Base Pair) ladder, Kuyucuk 1: Fatsa 3, Kuyucuk2: Fatsa 6, Kuyucuk 3: Perşembe 3, Kuyucuk 4: Perşembe 4, Kuyucuk 5: Perşembe 5, Kuyucuk 6: Ordu 1, Kuyucuk 7: Saraycık 1, Kuyucuk 8: Çamaş 2, Kuyucuk 9: Çamaş 3, Kuyucuk 10: Ünye 2, Kuyucuk 11: Çatalpınar 1, Kuyucuk 12: Çatalpınar 2, Kuyucuk 13: Fatsa 1, Kuyucuk 14: Fatsa 2, Kuyucuk 15: Fatsa 4, Kuyucuk 16: Perşembe 1, Kuyucuk 17: Perşembe 2, Kuyucuk 18: Ordu 2, Kuyucuk 19: Ordu 3, Kuyucuk 20: Ordu 4, Kuyucuk 21: Çamaş 1, Kuyucuk 22: Ünye 1, Kuyucuk 23: Çatalpınar 3, Kuyucuk 24: Çatalpınar 4.

Laboratuvar çalışmaları sonucunda örneklerimizin agaroz jel içindeki görüntüsünde; 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., 10., 11., 12., 13., 14., 20., 21., 22., 23., 24., 25., 26. ve 27. kuyucuklarda pozitif bant görülmektedir. Örneklerden 20. ve 21. kuyucuklarda bantlar biraz silik çıkmış olmasına rağmen sekans analizlerinde pozitif sonuç vermiştir. Bunlar; 3. kuyucuk Fatsa 3, 4. kuyucuk Fatsa 5, 5. kuyucuk Perşembe 3, 6. kuyucuk Perşembe 4, 7. kuyucuk Perşembe 5, 8. kuyucuk Ordu 1, 9. kuyucuk Saraycık 1, 10. kuyucuk Çamaş 2, 11. kuyucuk Çamaş 3, 12. kuyucuk Ünye 2, 13. kuyucuk Çatalpınar 1, 14. kuyucuk Çatalpınar 2, 20. kuyucuk Perşembe 1, 21. kuyucuk Perşembe 2, 22. kuyucuk Ordu 2, 23. kuyucuk Ordu 3, 24. kuyucuk Ordu 4, 25. kuyucuk Çamaş 1, 26. kuyucuk Ünye 1 ve 27. kuyucuk Çatalpınar 3 DNA'sıdır. Jel görüntüsü,

çalışılan *Rubus* spp. örneklerinin DNA'larının *trnL-F* gen bölgelerinin başarılı bir şekilde çoğaltılabildiğini ifade etmektedir (Şekil 1). Jel görüntüsünde görülen 20 adet pozitif bantı ifade eden Çizelge 4, DNA dizilerinin yüzde (%) nükleotit benzerlikleri ve tahmini evrimsel genetik uzaklıklarını vermektedir. Genbanktan referans alınan *Rubus* türleri ile çalışmamızdan sonuçlanan Haplotipler (Fatsa3-F3, Fatsa5-F5, Perşembe1-P1, Perşembe2-P2, Perşembe3-P3, Perşembe4-P4, Perşembe5-P5, Ünye1-U1, Ünye2-U2, Ordu1-O1, Ordu2-O2, Ordu3-O3, Ordu4-O4, Çamaş1-CM1, Çamaş2-CM2, Çamaş3-CM3, Çatalpınar1-CT1, Çatalpınar2-CT2, Çatalpınar3-CT3, Saraycık1-S1) aralarındaki filogenetik ilişkiyi açıklayan soy ağacı Şekil 2'de verilmiştir.

Çizelge 4. Belirlenen Fatsa3-F3, Fatsa5-F5, Perşembe1-P1, Perşembe2-P2, Perşembe3-P3, Perşembe4-P4, Perşembe5-P5, Ünye1-U1, Ünye2-U2, Ordu1-O1, Ordu2-O2, Ordu3-O3, Ordu4-O4, Çamaş1-CM1, Çamaş2-CM2, Çamaş3-CM3, Çatalpınar1-CT1, Çatalpınar2-CT2, Çatalpınar3-CT3, Saraycık1-S1 *Rubus* türleri aralarındaki nükleotit (%) benzerlikleri ve tahmini evrimsel genetik uzaklıkları

	Haplotip 1	Haplotip 2	Haplotip 3	Haplotip 4	Haplotip 5	Haplotip 6	<i>Rubus praecox</i>	<i>R. divaricatus</i>	<i>R. rhamnifolius</i>	<i>R. conothyrsoides</i>	<i>R. capricollensis</i>	<i>R. sanctus</i>	<i>R. silvaticus</i>	<i>R. odoratus</i>	<i>R. allegheniensis</i>	<i>Rubus</i> sp.	<i>R. hirsutus</i>
Haplotip 1	ID	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
	55	47	54	55	54	16	54	54	55	55	55	55	55	07	35	47	28
Haplotip 2	0.0	ID	0.9	0.9	1	0.9	0.9	0.9	1	0.9	0.9	0.4	1	0.8	0.9	0.9	0.8
	055	73	97	97	97	11	97	97	97	97	97	55	76	37	73	63	63
Haplotip 3	0.0	0.0	ID	0.9	0.9	0.9	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	0.4	0.9	0.8	0.9	1	0.8
	168	111	71	73	71	89	71	71	73	71	47	73	52	12	1	48	48
Haplotip 4	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	1	0.9	1	1	0.9	1	0.4	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8
	083	028	139	97	97	13	13	1	97	97	1	54	97	74	35	71	63
Haplotip 5	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	0.9	0.9	0.9	1	0.9	0.4	1	0.8	0.9	0.9	0.8
	055	000	111	028	97	11	97	97	97	1	97	55	76	37	73	63	63
Haplotip 6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	1	1	0.9	1	0.4	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8
	083	028	139	000	028	13	13	1	97	97	1	54	97	74	35	71	63
<i>Rubus praecox</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	0.9	0.9	0.9	0.4	0.9	0.7	0.8	0.8	0.7
	083	028	139	000	028	000	13	13	11	13	16	11	92	83	89	88	88
<i>R. divaricatus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	1	0.9	1	0.4	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8
	083	028	139	000	028	000	000	97	97	97	54	97	74	35	71	63	63
<i>R. rhamnifolius</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	1	0.4	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8
	083	028	139	000	028	000	000	000	97	97	54	97	74	35	71	63	63
<i>R. conothyrsoides</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	0.4	1	0.8	0.9	0.9	0.8
	055	000	111	028	000	028	028	028	028	97	55	76	37	73	63	63	63
<i>R. capricollensis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.4	0.9	0.8	0.9	0.9	0.8
	083	028	139	000	028	000	000	000	000	028	54	97	74	35	71	63	63
<i>R. sanctus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
	000	055	168	083	055	083	083	083	083	055	083	55	07	35	47	28	28
<i>R. silvaticus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.8	0.9	0.9	0.8
	055	000	111	028	000	028	028	028	000	028	055	76	37	73	63	63	63
<i>R. odoratus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.8	0.8	0.8
	281	224	339	253	224	253	253	253	224	253	281	224	224	29	52	57	57
<i>R. allegheniensis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.9	0.8
	253	196	310	224	196	224	224	224	196	224	253	196	253	12	48	48	48
<i>Rubus</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID	0.8
	168	111	000	139	111	139	139	139	111	139	168	111	339	310	0.0	48	48
<i>R. hirsutus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	ID
	515	456	515	456	456	456	456	456	456	456	515	456	544	485	515	515	515



Şekil 2. Genbanktan temin edilen *Rubus* türleri ile çalışmamızda elde edilen Haplotipler (Fatsa3-F3, Fatsa5-F5, Perşembe1-P1, Perşembe2-P2, Perşembe3-P3, Perşembe4-P4, Perşembe5-P5, Ünye1-U1, Ünye2-U2, Ordu1-O1, Ordu2-O2, Ordu3-O3, Ordu4-O4, Çamaş1-CM1, Çamaş2-CM2, Çamaş3-CM3, Çatalpınar1-CT1, Çatalpınar2-CT2, Çatalpınar3-CT3, Saraycık1-S1) aralarındaki filogenetik ilişkiyi gösteren soy ağacı (* NJ; Neighbor-Joining, **MP: Maximum-Parsimony, ***ML: Maximum-Likelihood).

Sonuç

Çalışmalarımızın sonunda örneklerden 6 Haplotip belirlenmiştir. Bunlar; Haplotip 1 (F3, P1, P3, P4, U1, U2, O2, O3, O4, CM1) *R. sanctus*'a (EF055343) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %87, %90 ve %88 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 2 (F5) *R. silvaticus*'a (KM036881) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu akrabalık durumu ML ağacındaki %80 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 3 (P2) *Rubus* sp.'ye (KT581217) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %98 ve %98 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 4 (P5) *R. divaricatus*'a (KM036924) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %65, %64 ve %66 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 5 (CM2, CM3, S1) *R. conothyrsoides*'e (KM036856) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu akrabalık durumu ML ağacındaki %80 algoritma değerleri ile destek görmüştür. Haplotip 6 (O1, CT1, CT2, CT3) *R. capricollensis*'e (KM036923) yakın akraba olarak bulunmuştur. Bu

akrabalık durumu sırayla NJ, MP ve ML ağaçlarındaki %65, %64 ve %66 algoritma değerleri ile destek görmüştür (Şekil 2).

Sonuçta bu şekilde bir çalışmayla Karadeniz Bölgesi Ordu'daki *Rubus* türlerinin *trnL-F* gen bölgelerine bakılarak filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde fazlasıyla rastgelinen *Rubus* türleri ile ilgili *trnL-F* gen bölgeleri yardımıyla yapılan bu çalışmanın, bundan sonraki *Rubus* spp.'nin filogenetik çalışmalarında kaynak oluşturacaktır. Ayrıca Türkiye florasında ilk olarak saptanan *Rubus conothyrsoides*, *R. capricollensis*, *R. divaricatus* ve *R. silvaticus*'un diğer bitkisel özelliklerinin tespit edilerek flora eklenmeleri yapılmalıdır.

Kaynaklar

Amsellem, L., Noyer, J.L., Le Bourgeois, T., & Hossaert-Mckey, M. (2000). Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology*, 9, 443-455.

- Anonim, (2009). www.edis.ifas.ufl.edu/Hsl04. (Erişim tarihi: 08.08.2018).
- Ateş, A. (1993). Ahududu Yetiştiriciliği. Bursa Tarım İl Müdürlüğü Yayınları, No: ÇEY.08.93/III.004, Bursa, 21s.
- Bothmer, R.V., Jacobsen, N., Baden, C., Jbrgensen, R.B., & Linde-Laursen, I. (1991). An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools 7, IBPGR, Rome, 126.
- Dizkırıncı, A., İşler, S., & Yiğit, O. (2016). *trnL* İtron ve *trnL-F* bölgeleri ile Van ilinde bulunan Orkide (Orchidaceae) türlerinin filogenetik ilişkisinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 83-91.
- Eck, R.V., & Dayhoff, M.O. (1966). Atlas of protein sequence and structure. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring.
- Eker, S., & Kolören, O. (2017). Yabancı otların moleküler teşhisinde Ribozomal RNA internal transcribed spacer (ITS) gen bölgelerinin kullanımı. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(1), 11-21.
- Eriksson, T., Hibbs, M.S., Yoder, A.D., Delwiche, C.F., & Donoghues, M.J. (2003). Phylogeny of Rosoideae based on sequences of the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA and the *trnL/F* region of chloroplast DNA. *International Journal of Plant Sciences*, 164 (2), 197-211.
- Filiz, E., & Koç, İ. (2011). Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Fitch, W. (1977). On the problem of discovering the most parsimonious tree. *American Naturalist*, 111, 223-257.
- Göktaş, A. (2011). Ahududu ve Böğürtlen Yetiştiriciliği. Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No: 38, 8 s.
- GuoYe, G., ShengHua, W., Ying, X., Lin, T., MaoQun, Y., & Fang, C. (2016). Molecular phylogenetic analysis of key *Jatropha* species inferred from nrDNA ITS and chloroplast (*trnL-F* and *rbcL*) sequences. *Genes and Genomics*, 38(6), 557-566.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Haymes, K.M. (1996). Mini-prep method suitable for a plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*, 14(3), 280-284.
- Kurt, H., Turan, A., & Ruşen, M. (2003). Bazı Ahududu ve Böğürtlen çeşitlerinin Giresun ekolojik koşullarına adaptasyonu (2000-2003). *Ulusal Kivi ve Üzümü Meyveler Sempozyumu Bildiri Kitabı*, 365-368.
- Kolören, O., & Eker, S. (2018). Ordu İli'nde *Urtica* türlerinin kloroplast DNA *trnL-F* gen bölgelerini kullanarak genetik çeşitliliğinin belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 33(3), 202-208.
- Longhi, S., Giongo, L., Buti, M., Surbanovski, N., Viola, R., Velasco, R., Ward, J.A., & Sargent, D.J. (2014). Molecular genetics and genomics of the Rosoideae: state of the art and future perspectives. *Horticulture Research*, 1, 2052-7276.
- Onur, C. (2006). Üzümü meyveler ıslah programından sempozyumlara. II. Ulusal Üzümü Meyveler Sempozyumu, 14-16 Eylül 2006, Tokat.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, J.E.E., Morgan, D.R., Kerr, M., Robertson, K.R., Arsenault, M., Dickinson, T.A., & Campbell, C.S. (2007). Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 266, 5-43.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 4, 406-425.
- Sezer, A., & Kolören, O. (2019). Doğu Karadeniz Bölgesi kivi bahçelerindeki yabancı ot türleri, rastlama sıklıkları ve genel kaplama alanlarının belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(2), 227-236.
- Soejima, A., & Nagamasu, H. (2004). Phylogenetic analysis of Asian Symplocos (Symplocaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. *Journal of Plant Research*, 117(3), 199-207.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*, 30, 2725-2729.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D.G. (1997). The clustal x-windows interface: flexible strategies formul tiple sequence alignmentaided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876-4882.
- Uygur, F.N., Uygur, S., & Kolören, O. (2001). Turunçgillerde yabancı otlar ve entegre mücadelesi. Türkiye Turunçgil Bahçelerinde Entegre Mücadele (N. Uygur (Ed.)), TÜBİTAK TARP, Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, 121-157.
- Yonat, H., & Kolören, O. (2017). Determination of weed species in Kiwifruit Orchards of Ordu Province-Turkey. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(2), 155-163.