



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Quercus L. Cinsine Ait Türlerde Kloroplast DNA'ya Ait psbA-trnH IGS Bölgesinin Kullanılarak Filogenetik İlişkilerin Değerlendirilmesi

 Aykut YILMAZ<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Uşak Üniversitesi, Uşak, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: aykutyilmaza@gmail.com

DOI: 10.29130/dubited.637842

### ÖZET

Kloroplast genoma ait *psbA-trnH* IGS bölgesi, en fazla nükleotid dizi farklılığı içeren bölgelerden biri olmasından dolayı barkodlama amacı ile bitkilerde sıklıkla kullanılan bölgelerden biridir. Bu amaçla meşelerde var olan taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağlamak ve türler arasındaki filogenetik ilişkileri değerlendirmek adına bu bölge bu çalışmada tercih edilmiştir. İlk olarak *psbA-trnH* IGS bölgesine ait sekans bilgisi analizler için NCBI'den sağlanılmıştır. Daha sonra bu sekanslar hizalandırılmış ve varyasyon gösteren bölgeler için bir bazın diğerine değişim oranları, transisyon/transversiyon oranları, baz frekansları gibi analizler MEGA X programı kullanılarak yapılmıştır. Son olarak, türlerin birbirleri ile olan filogenetik ilişkilerini değerlendirmek adına Neighbor-joining dendrogram hazırlanmış ve analiz edilmiştir. Bu bölgenin meşe türlerinin seksiyonel ayrımı için yeterli varyasyona sahip olmasına karşın, tür ayrımında ve tanımlamasında sekans varyasyonlarının yetersiz kaldığı görülmüştür. Çalışmanın sonucu olarak *psbA-trnH* IGS sekansının meşelerde barkodlama amacı ile tek başına yetersiz olduğu, bununla birlikte farklı barkodlama bölgeleri ile kullanımının fayda sağlayacağı önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *psbA-trnH* IGS, NCBI, MEGA X, Transisyon/transversiyon, Neighbor-joining dendrogram, Barkodlama

## Evaluation of Phylogenetic Relationships by Using psbA-trnH IGS Region of Chloroplast DNA in the Species of the Genus Quercus L.

### ABSTRACT

The *psbA-trnH* IGS region belonging to chloroplast genome is one of the regions which most frequently used in plants for barcoding because of its nucleotide sequence differences. For this purpose, this region was chosen in this study in order to contribute to the solution of taxonomic problems in oaks and to evaluate phylogenetic relationships between species. Firstly, the sequence information of the *psbA-trnH* IGS region was obtained from NCBI for analysis. Then, these sequences were aligned and analysis for variable sites such as substitution from one base to another base, transition / transversion ratios, and base frequencies were performed using the MEGA X program. Finally, Neighbor-joining dendrogram was prepared and analyzed in order to evaluate the phylogenetic relationships between the species. Although this region has sufficient variation for sectional separation of oak species, sequence variations were found to be insufficient in species separation and identification. As a result of the study, it is suggested that the *psbA-trnH* IGS sequence alone is insufficient for barcoding in oaks, however it will be beneficial to use it with different barcoding regions together.

**Keywords:** *psbA-trnH* IGS, NCBI, MEGA X, Transition/transversion, Neighbor-joining dendrogram, Barcoding

## I. GİRİŞ

Fagaceae familyasına ait olan meşeler; Kuzey Yarım Kürede, Amerika, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'yı içeren geniş bir bölgede 500'ün üzerinde türle temsil edilmektedirler [1-3]. *Quercus* L. cinsi, familyanın tür sayısı, geniş coğrafik yayılışı ve yüksek morfolojik varyasyonları ile en iyi bilinen cinsi durumundadır. Fakat bu denli geniş coğrafik yayılış ve tür çeşitliliği beraberinde taksonomik problemleri de cins içerisinde arttırmakta ve bu problemlerin çözümünde yeni çözüm yolları aranmasını zorunlu kılmaktadır. Geniş coğrafik yayılış ve tür çeşitliliğinin yanısıra, meşe türleri arasında ve özellikle aynı seksiyona ait türlerde sıklıkla görülen hibritleşme davranışı var olan taksonomik problemlerin en büyük sebebini oluşturmaktadır. Meşe türlerinin sınıflandırılmasında en değerli morfolojik karakterler yapraklara aittir. Bunların yetersiz kaldığı durumlarda ise tür tanımlamasında ikincil karakter olarak meyveler değerlendirilmekte ve sıklıkla önerilmektedir. Meşe türlerine ait yaprak ve meyveden sağlanan birçok karakter ile, bu karakterlerin türlerinin sınıflandırılmasında ve taksonomik ilişkilerinin değerlendirilmesinde önemini gösteren birçok çalışma yapılmış ve bu durumun gerçekliği gösterilmiştir [4-8]. Bununla birlikte bu denli tür çeşitliliğinin fazlalığı ve beraberinde gelen varyasyonlar, özellikle hibrit bireylerde gözlenen varyasyonlar, tür tanımlaması için var olan morfolojik karakterler ile tespit edilememekte ve cins içerisinde taksonomik problemleri arttırmaktadır. Bu amaçla birçok sitogenetik ve özellikle PCR temeline dayanan moleküler çalışmalar yapılmakta, özellikle son dönemlerde sekans analiz tekniklerinin gelişmesi ile hem türü tanımlamak adına yeterince korunmuş ve hem de türler arası ilişkiyi ortaya koyabilecek kadar varyasyon içeren kısa DNA sekans bilgisi temeline dayanan barkodlama çalışmaları hız kazanmıştır [9-12]. DNA barkodlamaya, var olan bu taksonomik problemlerin çözümünün yanısıra, tür çeşitliliğini tayini ve filogenetik ilişkilerinin değerlendirilmesi amacı ile de sıklıkla başvurulmakta ve bu amaçla en uygun bölgeyi bulmak adına çekirdek DNA ve plastid DNA'ya ait bölgeler denenmektedir. Özellikle hem türü tanımlayacak kadar korunmuş ve var olan nükleotid değişimleri ile türler arası ilişkiyi ortaya koyabilecek sekans farklılıkları içeren plastid DNA sıklıkla tercih edilmektedir. Bitkilerde kloroplast DNA bu amaçlara en uygun bölgelere sahip gibi görünmekle birlikte, hala tüm türleri kapsayan evrensel bir barkodlama bölgesi tespit edilememiştir [11,13,14]. Başka bir deyişle bazı familyalara ait türlerde veya cinslerde çok iyi ayırım yapabilen ve önerilen bir DNA bölgesi, diğer bitki gurupları için taksonomik olarak tür üstü kategorilerde sonuç verebilmektedir [15]. Birçok yayından elde edilen veriler neticesinde ve yaşam barkod konsorsiyumunca bu amaçla en çok tavsiye edilen kloroplast genoma ait bölgeler olarak *rbcL*, *matK*, *trnK*, *trnH-psbA*, *atpB-rbcL*, *trnT-trnF* sayılabilir [14,16,17]. Bu bölgeler, yaşam barkod konsorsiyumunun da önerdiği gibi gen bölgeleri olabildiği gibi, çeşitli bölgelerin kombinasyonu şeklinde de kullanılabilir [17].

Türkiye'de meşeler incelendiğinde, 3 seksiyonda (*Quercus*, *Cerris* ve *Ilex*) 18 tür (25 takson) ile temsil edildiği ve çok geniş bir coğrafik yayılış alanına sahip olduğunu görülmektedir [18]. Bu denli coğrafik yayılış ve tür çeşitliliği Türkiye'de de meşeleri, özellikle Türkiye'nin lokasyonu, jeomorfolojik yapısı ve buna bağlı farklı iklimsel karaktere sahip bölgeleri gibi nedenlerle Dünya'da olduğu gibi problemleri kılmaktadır. Ayrıca birçok türün aynı coğrafik bölgede oluşturduğu karışık popülasyonlarda zaten var olan hibridizasyonu arttırmakta ve oluşan varyasyonlar nedeni ile tür sınırlarının çizilmesini zorunlu kılmaktadır. Bunların yanısıra, Türkiye'de *Q. aucheri*, *Q. vulcanica* ve *Q. ithaburensis* Decne. subsp. *macrolepis* (Kotschy) Hedge & Yaltırık gibi endemik taksonların varlığı genetik çeşitliliğin belirlenmesi bakımından cinsi daha da önemli kılmakta ve gen kaynaklarının korunması açısından yapılacak çalışmaları önemli hale getirmektedir.

Belirtilen tüm bu taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağlamak ve genetik çeşitliliği belirlemek adına, meşelerde en iyi barkodlama bölgesini bulmak için birçok kloroplast ve çekirdek DNA'ya ait bölgelerin tespit edilip denenmesi ve bu bölgelerin tür ayırım yeteneklerinin ortaya çıkarılması gerekmektedir. Bu çalışmada bu amaçla kloroplast DNA'ya ait *psbA-trnH* intergenic spacer (IGS) bölgesi barkodlama bölgesi olarak seçilmiş ve Türkiye ile komşusu olan ülkelere ait 17 meşe türünün sekans bilgisi tür ayırım yetenekleri ve filogenetik ilişkilerinin değerlendirilmesi amacı ile kullanılmıştır.

## II. YÖNTEM

Çalışmada kloroplast DNA'ya ait *psbA-trnH* IGS bölgesinin 17 meşe türü için sekans bilgisi National Centre of Biotechnology Information (NCBI)' dan temin edilmiştir [19,20]. Çalışılan türler, türlerin ait olduğu seksiyonlar ve genbank kodları Tablo 1'de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** *psbA-trnH* IGS bölgesi için çalışmada kullanılan türler, ait olduğu seksiyonlar ve Gen Bank accession numaraları

| Genus   | Section | Species                | GenBank Acc. No. |
|---------|---------|------------------------|------------------|
|         | Quercus | <i>Q. vulcanica</i>    | HE591278         |
|         | Quercus | <i>Q. infectoria</i>   | HE591305         |
|         | Quercus | <i>Q. macranthera</i>  | HE591281         |
|         | Quercus | <i>Q. robur</i>        | HE591285         |
|         | Quercus | <i>Q. petraea</i>      | HE591314         |
|         | Quercus | <i>Q. frainetto</i>    | HE591313         |
|         | Quercus | <i>Q. pubescens</i>    | HE591309         |
|         | Quercus | <i>Q. hartwissiana</i> | HE611278         |
| Quercus | Quercus | <i>Q. pontica</i>      | HE591330         |
|         | Cerris  | <i>Q. ithaburensis</i> | HE591317         |
|         | Cerris  | <i>Q. trojana</i>      | HE591295         |
|         | Cerris  | <i>Q. cerris</i>       | HE591291         |
|         | Cerris  | <i>Q. brantii</i>      | HE591320         |
|         | Cerris  | <i>Q. libani</i>       | HE591321         |
|         | Ilex    | <i>Q. ilex</i>         | HE591259         |
|         | Ilex    | <i>Q. coccifera</i>    | HE591260         |
|         | Ilex    | <i>Q. aucheri</i>      | HE591315         |

İlgili barkodlama bölgesi için tercih edilen meşelerin sekansları, Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA X) programı kullanılarak ilgili analizleri yapmak adına hizalandırılmıştır. Bir sonraki aşama olarak, *psbA-trnH* IGS bölgesinin 17 meşe türünde hizalandırılmış DNA'larının varyasyon gösteren bölgeleri belirlenmiş ve Şekil 1 de gösterilmiştir. Ayrıca varyasyonların en büyük sebebi olan bir bazın diğer baza değişim oranları, pürin ve pirimidinler için transisyon/transversiyon oranları, herhangi bir baz gurubuna bakılmaksızın genel transisyon/transversiyon oranları ve çalışılan türlerin ilgili bölge için nükleotid frekansları hesaplanmış ve Tablo 2, 3 ve 4'de gösterilmiştir. Son olarak üzerlerinde bootstrap değerleri belirtilen Neighbour-joining dendrogram, MEGA X programı kullanılarak Şekil 2'de görüldüğü gibi oluşturulmuştur. Filogenetik ilişkileri en doğru şekilde göstermek adına kaçan ve anlamsız data olarak ifade edilen kısımlar programın "complete deletion option" özelliği ile çıkarılmıştır. Sonuç olarak evrimsel analizler 546 nükleotid sekansının toplamında analiz edilmiş ve değerlendirilmiştir.

| Türler                      | Sekans Bilgisi |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|-----------------------------|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                             | 1              | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 9 |
|                             | 5              | 9 | 6 | 6 | 7 | 0 | 4 | 5 | 7 | 1 | 5 | 9 |
|                             | 8              | 7 | 2 | 7 | 2 | 2 | 5 | 7 | 7 | 1 | 2 | 0 |
| <i>Quercus trojana</i>      | C              | C | T | T | C | T | T | T | T | G | A | G |
| <i>Quercus frainetto</i>    | T              | T | . | G | A | G | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus macranthera</i>  | T              | T | . | . | A | G | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus pubescens</i>    | T              | T | . | . | A | . | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus hartwissiana</i> | T              | T | . | . | A | . | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus vulcanica</i>    | T              | T | . | . | A | G | G | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus infectoria</i>   | T              | T | . | . | A | G | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus cerris</i>       | .              | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Quercus robur</i>        | T              | T | . | . | A | G | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus pontica</i>      | T              | T | . | . | A | . | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus ithaburensis</i> | .              | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Quercus libani</i>       | .              | . | . | . | A | . | . | . | . | A | . | . |
| <i>Quercus brantii</i>      | .              | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . |
| <i>Quercus petraea</i>      | T              | T | . | . | A | G | . | C | . | . | . | T |
| <i>Quercus aucheri</i>      | .              | . | G | . | A | . | . | A | . | . | G | . |
| <i>Quercus coccifera</i>    | .              | . | G | . | A | . | . | A | . | . | G | . |
| <i>Quercus ilex</i>         | .              | . | G | G | A | . | . | A | C | . | . | . |

**Şekil 1.** Çalışılan türler ve *psbA-trnH* IGS bölgesine ait varyasyon gösteren bölgeler (kaçan ve anlamsız data olarak ifade edilen kısımlar çıkarılmıştır)

### III. BULGULAR

Bu çalışmanın temel amacı ilk olarak *Quercus* cinsine ait taksonların filogenetik ilişkilerini anlamak ve taksonomik problemlerin çözümüne katkı sağlamak, ikinci olarak ise barkodlama bölgesi olarak *psbA-trnH* IGS sekans bilgisinin değerlendirilmesi ve öneminin belirlenmesidir.

Bu barkodlama bölgesi en fazla nükleotid dizi farklılığı içermesi nedeni ile kloroplast DNA genomunda en sık kullanılan bölgelerden biridir [16,21]. Bununla birlikte bu varyasyonların çoğunlukla insersiyon ve delesyon şeklinde olması, buna bağlı olarak çalışılan türlerde sekans uzunluğundaki farklılıklar, çalışılan türlerde bu bölge için sekans hizalanmasını zorlaştırmaktadır [16,22,23]. Çalışılan meşe türleri için bu bölgedeki varyasyonlar değerlendirildiğinde aynı durum, yani delesyon ve insersiyonlar dan kaynaklı sekans uzunluk farklılıkları bu çalışmada da gözlenmiştir. Bu sebeple filogenetik ilişkilendirmede anlamlı bilgi elde etmek adına bu bölgeler çıkarılmış ve analizler bu doğrultuda yapılmıştır.

İlk olarak varyasyon gösteren bölgelerdeki bir bazın diğer bir baza değişim oranları hesaplanmıştır. Tablo 2’de varyasyon gösteren bölgelerdeki baz değişimlerine bakıldığında, en önemli değişimin pirimidinlere ait baz değişimlerinden yani C ve T nükleotidlerinin birbirine dönüşümünü ifade eden transisyonel değişimlerden kaynaklandığı görülmektedir. Pürin bazlarına bakıldığında ise buradaki değişimlerin pirimidinlere göre daha dengede olduğu, başka bir deyişle pürinlerin transisyonel ve transversiyonel baz değişimlerinin daha dengede olduğu söylenebilir. Her bir baz gurubu için transisyon/transversiyon oranlarına bakıldığında, pirimidinler için bu oran 3,30 iken, pürinlerde ise 0,86 ile daha dengededir. Herhangi bir baz gurubuna bakılmaksızın varyasyon gösteren bölgelerdeki transisyon/transversiyon oranı ise Tablo 3’de görüldüğü gibi 0,88’dir.

Tablo 4’de, incelenen meşe taksonlarının *psbA-trnH* IGS bölgesi için nükleotid frekanslarına bakıldığında, %70’e yakın bir oranda A ve T bazlarından oluşan bir sekans bilgisine sahip olduğu görülmektedir.

**Tablo 2.** *psbA-trnH* IGS bölgesine ait bir bazın diğerine değişim durumları (koyu bölgeler transisyonel baz değişimlerini, açık ve italik bölgeler ise transversiyonel baz değişimlerini ifade etmektedir)

|          | <b>A</b>    | <b>T</b>     | <b>C</b>     | <b>G</b>    |
|----------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| <b>A</b> | -           | 7,97         | 4,16         | <b>2,58</b> |
| <b>T</b> | 9,45        | -            | <b>13,77</b> | 2,98        |
| <b>C</b> | 9,45        | <b>26,33</b> | -            | 2,98        |
| <b>G</b> | <b>8,19</b> | 7,97         | 4,16         | -           |

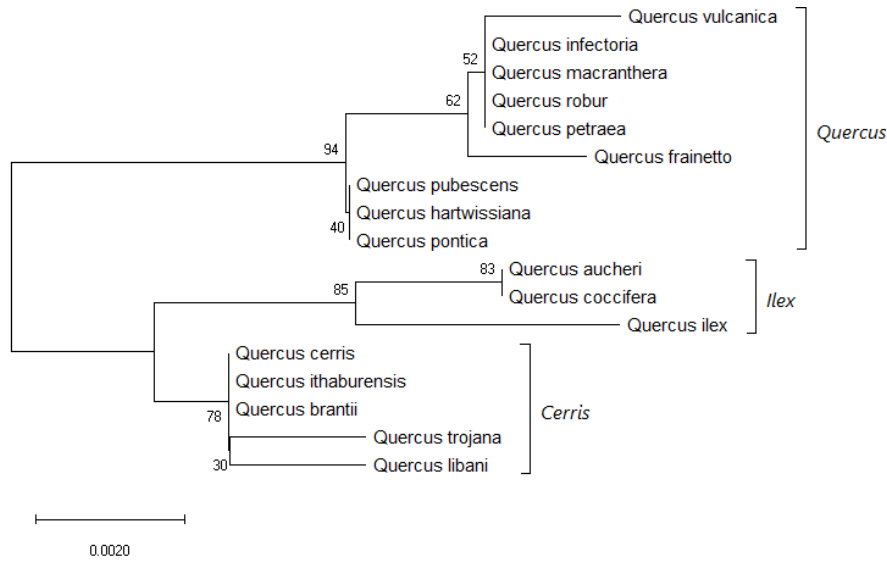
**Tablo 3.** *psbA-trnH* IGS sekansına ait varyasyon gösteren bölgelerdeki pürinler, pirimidinler ve genel transisyon/transversiyon oranları

| <b>Transisyon/transversiyon oranı</b> |             |
|---------------------------------------|-------------|
| <b>Pürinler</b>                       | 0,86        |
| <b>Pirimidinler</b>                   | 3,30        |
| <b>Genel</b>                          | <b>0,88</b> |

**Tablo 4.** Her bir baz için *psbA-trnH* IGS bölgesine ait nükleotid frekansları

| <b>Nükleotid</b> | <b>Frekans (%)</b> |
|------------------|--------------------|
| A                | 38.47              |
| T/U              | 32.44              |
| C                | 16.96              |
| G                | 12.13              |

Son olarak 17 *Quercus* türünün filogenetik ilişkilerini göstermek adına Şekil 2’de gösterildiği gibi Neighbor-Joining (NJ) dendrogram çizilmiştir [24]. Filogenetik ilişkileri gösteren ağaç incelendiğinde, çalışılan türlerin öncelikli olarak 2 guruba ayrıldığı, ilk guruptaki türlerin hepsinin *Quercus* seksiyonuna ait olduğu, diğer guruptaki türlerin ise diğer iki seksiyon olan *Cerris* ve *Ilex* içerisinde ilişkilendirildiği görülmektedir. Kısaca *psbA-trnH* IGS bölgesine ait sekans bilgisi, türleri birbirleri ile olan ortak özellikleri ve benzerliklerine göre hatasız olarak seksiyonel anlamda ayırmıştır. Fakat türlerin birbirleri ile olan ilişkilerini değerlendirmek adına, başka bir ifadeyle seksiyon içindeki türlerin birbirleri ile olan mesafelerinin değerlendirilmesi adına bazı türler için ayırım yapıyor gibi görünmekle beraber, tam bir tür ayırımı yapamadığı görülmektedir.



**Şekil 2.** *psbA-trnH* IGS bölgesine ait, 17 *Quercus* türü için Neighbor-Joining dendrogram (Bootstrap değerleri dendrogram üzerinde gösterilmektedir)

## IV. SONUC

Günümüzde tür seviyesinde ayırım yapabilecek ve türler arası ilişkilerin değerlendirilebileceği kısa DNA sekansları olarak adlandırılan barkodlama bölgeleri sıklıkla kullanılmakta, özellikle Yaşam Barkot Konsorsiyumunca (CBOL), ifade edilen bu amaçlara en uygun bölgeler olmaları nedeni ile çoğu plastid genoma ait bölgeler var olan problemlerin çözümüne katkı amacı ile büyük oranda tavsiye edilmektedir [11,13,25].

Bu bölgelerden biri olan *psbA-trnH* IGS bölgesi, sekans bilgisi temin edilen *Quercus* türleri üzerine bu amaçla tür ayırım yeteneği ve türler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde ki önemini belirlemek amacı ile denenmiştir. 17 meşe türünün sekans bilgisi ilk olarak MEGA X programı kullanılarak hizalandırılmış ve 574 nükleotidlik bir sekans bilgisi elde edilmiştir. Çalışılan meşe türlerinde varyasyon gösteren bölgelerdeki sekans değişimleri incelendiğinde bu durumun yüksek oranda delesyon ve insersiyonlardan kaynaklı olduğu gözlenmiştir. Nükleotid farklılıkları türler arası ilişkileri değerlendirmek adına önemli olmakla birlikte, bu tarz farklılıklardan kaynaklanan sekans uzunluğundaki değişkenlikler, nükleotidlerin hizalandırılmasını zorlaştırmakta ve analiz sonuçlarını bu sebeple olumsuz yönde etkilemektedir. Bu amaçla programda, anlamsız bilgi ve boşluklar olarak görülen bu bölgeler analizde daha etkili sonuç almak adına çıkarılmış ve 546 nükleotidlik bilgiye dayanan analizler bu doğrultuda yapılmıştır. Bu değişimlerin hangi türlerden kaynaklandığına bakıldığında ise öncelikli olarak *Ilex* seksiyonuna ait *Q. coccifera*, *Q. ilex* ve *Q. aucheri*'de delesyonlu bölgelerin varlığı en fazla görülmüş, daha sonra ise *Cerris* seksiyonuna ait türlerde (*Q. trojana*, *Q. cerris*, *Q. ithaburensis*, *Q. libani* ve *Q. brantii*) bu değişimler yüksek oranda görülmüştür. *Quercus* seksiyonunda ise bu anlamda Türkiye'ye endemik olan ve çok sınırlı bir alanda yayılış gösteren *Q. vulcanica*'da değişimler diğer türler ile kıyaslamada ön plana çıkmıştır.

Türler arası ilişkileri değerlendirmek adına oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde, türlerin seksiyon temelinde oldukça iyi ayrıldığı, yani varyasyonların türlerin ortak özelliklerine göre ayırımında bu barkodlama bölgesi için anlamlı olduğunu göstermektedir. *Ilex* seksiyonuna ait türler, *Cerris* seksiyonuna ait türler ile filogenetik açıdan daha yakın bulunmuş ve buna dışarıdan *Quercus* seksiyonu dendrogramda bağlanmıştır. Ancak bununla birlikte baz değişimlerini temel alan varyasyonlar dikkate alındığında, Şekil 1'de görüldüğü gibi 12 bölgede değişimler filogenetik analizde değerlendirilmiş ve seksiyonel ayırımı yeterli olsa da, tür seviyesinde bazı türler için ayırım yapmasına karşın genelde yetersiz kaldığı görülmüştür.

Bu durum bu bölgedeki sekans bilgisinin *Quercus* cinsine ait türler için yüksek oranda korunduğunu, var olan değişimlerin tür üstü kategoriler için, seksiyon bazında çok anlamlı varyasyonlar olduğunu göstermekle beraber, tür düzeyinde bazı ayrımlar görülmekle birlikte genel anlamda yetersiz kaldığı söylenebilir.

Bu çalışmada *psbA-trnH* IGS bölgesine ait değişimler, *Quercus* türleri için analiz edilmiş, değişimlerin nedenleri belirlenmiş ve bu barkodlama bölgesinin meşelerde filogenetik ilişkilendirmede ki öneminden bahsedilmiştir. 546 nükleotidlik hizalanmış sekans uzunluğu ile *psbA-trnH* IGS bölgesi DNA uzunluğu anlamında barkodlama için yeterli olmasına rağmen, baz değişimlerine bağlı varyasyonlar değerlendirildiğinde çalışılan meşe türleri için oldukça korunmuş bir bölge olduğu ve tür tanımlaması ile birlikte filogenetik ilişkilendirme için CBOL tarafından önerilmesine rağmen yeterli varyasyona sahip olmadığı görülmektedir. Sonuç olarak bu bölgenin meşeler için tek başına iyi bir barkodlama adayı olmadığı, ancak diğer barkodlama bölgeleri ile kullanımının faydalı olabileceği söylenebilir.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışmada benden yardımını esirgemeyen İbrahim Melih ÖZTÜRKMEN ve Neslihan YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] R. Govaerts and D. G. Frodin, "World checklist and bibliography of Fagales (Betulaceae, Corylaceae, Fagaceae and Ticodenraceae,)" *Royal Botanic Garden*, Great Britain: Kew, 1998.
- [2] A. Maryam, R. Fatima and S. Abbas, "Genetic variation among Iranian oaks (*Quercus* ssp.) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers," *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 11, no. 45, pp. 10291–10296, 2012.
- [3] A. Yılmaz, "Cytotaxonomic study of *Quercus* L. species from section *Quercus* in Turkey," *Caryologia*, vol. 70, no. 2, pp. 141–146, 2017.
- [4] A. Borazan and M. T. Babaç, "Morphometric leaf variation in oaks (*Quercus*) of Bolu, Turkey," *Annales Botanici Fennici*, vol. 40, pp. 233–242, 2003.
- [5] A. Gonzalez-Rodriguez, D. M. Arias, S. Valencia and K. Oyama, "Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks," *Am. J. Bot.*, vol. 91, pp. 401–409, 2004.
- [6] F. Tilkı and C. U. Alptekin, "Variation in acorn characteristics in three provenances of *Quercus aucheri* Jaub. Et Spach and provenance, temperature and storage effects on acorn germination," *Seed Sci. Technol.*, vol. 33, pp. 441–447, 2005.
- [7] A. Boratynski, K. Marcysiak, A. Lewandowska, A. Jasinska, G. Iszkulo and J. Burczyk, "Differences in leaf morphology between *Quercus petraea* and *Q. robur* adult and young individuals," *Silva Fenn.*, vol. 42, pp. 115–124, 2008.
- [8] A. Yılmaz, E. Uslu and M. T. Babaç, "Morphological variability of evergreen oaks (*Quercus*) in Turkey," *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, vol. 24, no. 1, pp. 39–47, 2017.
- [9] J. Franjic, Z. Liber, Z. Skvorc, M. Idzajt, R. Sostaric and Z. Stancic, "Morphological and molecular differentiation of the Croatia populations of *Quercus pubescens* (Fagaceae)," *Acta Soc. Bot. Pol.*, vol. 75, pp. 123–130, 2006.
- [10] Z. Faltusova, L. Kucera and J. Ovesna, "Genetic diversity of *Brassica oleracea* var. *capitata* gene bank accessions assessed by AFLP," *Electron. J. Biotechnol.*, vol. 14, no. 4, 2011.
- [11] R. Piredda, M. C. Simeone, M. Attimonelli, R. Bellarosa and B. Schirone, "Prospects of barcoding the Italian wild dendroflora: oaks reveal severe limitations to tracking species identity," *Molecular Ecology Resources*, vol. 11, pp. 72–83, 2011.
- [12] J. Yang, L. Vazquez, X. Chen, H. Li, H. Zhang, Z. Liu and G. Zhao, "Development of Chloroplast and Nuclear DNA Markers for Chinese Oaks (*Quercus* Subgenus *Quercus*) and Assessment of Their Utility as DNA Barcodes," *Frontiers in Plant Science*, vol. 8, pp. 816, 2017.
- [13] D. Selvaraj, R. K. Sarma and R. Sathishkumar, "Phylogenetic analysis of chloroplast matK gene from *Zingiberaceae* for plant DNA barcoding," *Bioinformation*, vol. 3, no. 1, pp. 24–27, 2008.
- [14] E. Filiz ve İ. Koç, "Bitkilerde DNA barkotları," *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, c. 12, ss. 53–57, 2012.
- [15] K. Hürkan, "Karasal bitkilerde DNA barkodlama: Bazı DNA barkod bölgelerinin incelenmesi," *The International Journal of Innovative Approaches in Science Research*, c. 1, s. 1, ss. 57–67, 2017.

- [16] W. J. Kress and D. L. Erickson, "A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region," *PLoS ONE*, vol. 2, no. 6, pp. 508, 2007.
- [17] CBOL Plant Working Group, "Plant barcode protocol matK and rbcL," pp. 599, 2009.
- [18] F. Yaltirik, *Türkiye meşeleri teşhis kılavuzu*, İstanbul, Türkiye: Yenilik Basımevi, 1984.
- [19] NCBI. (2019, September 24). *GenBank Overview* [Online]. Available: [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)
- [20] R. Piredda, INSDC. DAF, University of Tuscia, Via C. De Lellis, 01100, ITALY, 2011
- [21] J. Shaw, E. B. Lickey, E. E. Schilling and R. L. Small, "Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III," *American Journal of Botany*, vol. 94, no. 3, pp. 275–288, 2007.
- [22] C. C. Chang, H. C. Lin, I. P. Lin, T. Y. Chow, H. H. Chen, W. H. Chen and S. M. Chaw, "The chloroplast genome of Phalaenopsisaphrodite (Orchidaceae): Comparative analysis of evolutionary rate with that of grasses and its phylogenetic implications," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 23, no. 2, pp. 279–291, 2006.
- [23] M. W. Chase, R. S. Cowan, P. M. Hollingsworth, C. Van Den Berg, S. Madriñán, G. Petersen et al., "A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants," *Taxon*, vol. 56, no. 2, pp. 295–299, 2007.
- [24] N. Saitou and M. Nei, "The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees," *Molecular Biology and Evolution*, vol. 4, pp. 406–425, 1987.
- [25] T. Borsch and D. Quandt, "Mutational Dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA," *Plant Systematics and Evolution*, vol. 282, pp. 169–199, 2009.