

T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI *LACTUCA* L.  
(ASTERACEAE) TAKSONLARININ MOLEKÜLER  
SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VEYSEL UZUN

BALIKESİR, HAZİRAN - 2014

T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI *LACTUCA* L.  
(ASTERACEAE) TAKSONLARININ MOLEKÜLER  
SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VEYSEL UZUN

BALIKESİR, HAZİRAN - 2014

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Veysel UZUN tarafından hazırlanan “TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI *LACTUCA L.* (ASTERACEAE) TAKSONLARININ MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 10.06.2014 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Yard. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Üye  
Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR

Üye  
Doç. Dr. Baki ÇİÇEK



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Cihan ÖZGÜR

.....

**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler  
Birimi tarafından 2013/132nolu proje ile desteklenmiştir.**



## ÖZET

### TÜRKİYE'DE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI *LACTUCA* L. (ASTERACEAE) TAKSONLARININ MOLEKÜLER SİSTEMATİK ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
VEYSEL UZUN  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: YARD. DOÇ.DR. FATİH COŞKUN)

BALIKESİR, HAZİRAN - 2014

*Lactuca* L. cinsi Asteraceae familyasında yer almakta olup bu familya tohumlu bitkilerin en zengin familyalarından biridir. Çoğu otsu, az bir kısmı çalı veya ağaçlardır. Dünyada 1500 cins ve 23000 civarında türle temsil edilen kozmopolit bir familyadır. Türkiye'de yaklaşık 138 cins ve bunlara ait 1300'den fazla tür bulunmaktadır. *Lactuca* L. cinsinin Türkiye'deki takson sayısı Türkiye Florası'na göre 8 olup, son düzenlemelere göre ise 33 takson olarak yer almaktadır.

Bu çalışma ile Türkiye'de yetişen bazı *Lactuca* türlerinin (*sensu stricto*) moleküler sistematik yaklaşımlar kullanılarak filogenileri ortaya konmuştur. Böylece bazı *Lactuca* taksonları üzerinde morfolojik karakterlerle ortaya konmuş sistematik bilgilerin DNA dizisi verilerince de desteklenip desteklenmediğine bakılmıştır. Çalışılan bitki örneklerinin her birinin ITS ve *trnL-F* bölgelerine ait DNA dizileri Maksimum Parsimoni (MP) kriteri altında Dallandır-Bağla-Analizi (Branch-and-Bound) ile yapılmıştır. Sonrasında mutlak uyumluluk ağaçları oluşturularak Bootstrap analizi yapılmıştır. Genetik uzaklık ağaçları ise UPGMA ve NJ analizleriyle elde edilmiştir. ITS bölgesine göre oluşturulan ağaçların, *trnL-F* bölgelerine göre oluşturulan ağaçlardan sistematik açıdan daha kullanışlı olduğu ortaya çıkmıştır. Dış gurup olarak seçilen taksonlardan *Hieracium*'a göre *Imula* taksonlarının *Lactuca* cinsine daha yakın bir ilişki gösterdiği ve iç guruplardan da *L. undulata* ve *L. tuberosa* nın diğer içgurup elemanlarından % de 100 lük bir Bootstrap desteğiyle ayrıldığı görülmüştür.

**ANAHTAR KELİMELELER:** *Lactuca*, ITS/*trnL-F*, Filogenetik, Sistematik

## ABSTRACT

### MOLECULAR SYSTEMATIC ANALYSIS OF SOME *LACTUCA* L. (ASTERACEAE) TAXA DISTRIBUTED IN TURKEY

MSC THESIS  
VEYSEL UZUN

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
BIOLOGY

(SUPERVISOR:ASSIST. PROF.DR. FATİH COŞKUN)

BALIKESİR, JUNE 2014

The genus *Lactuca* belongs to the Family Asteraceae which is one of the richest families of the flowering plants. Mostly herbs and few of them are woody bushes or trees. The Asteraceae is a cosmopolitan family represented with 1500 genera and 23000 species.

In Turkey, there are more than 1300 species belonging to approximately 138 genera. The number of the taxa for the genus *Lactuca* in Turkey is eight based on the Flora of Turkey and East Aegean Islands; however, it is 33 taxa based on the recent regulations in the literature. In this study, phylogenies of the taxa belonging to the genus *Lactuca* living in Turkey were investigated using molecular systematic approaches. Thus molecular data was searched whether it is supporting the morphological data used for the systematics of some *Lactuca* taxa. ITS nr and *trnL*-F DNA sequences of each plant sample studied were analyzed under parsimony criterion using Branch-and-Bound algorithm first. Then the strict consensus trees were obtained and the Bootstrap analysis was performed under Maksimum Parsimony (MP) criterion. Genetic distance trees were obtained via UPGMA and NJ search strategies. Phylogenetic trees based on ITS region were found to be more useful than phylogenetic trees based on *trnL*-F regions. *Inula* taxa which are chosen as one of the outgroup taxa were found to be showing closer relationship to the genus *Lactuca* comparing to the *Hieracium* taxa and *L. undulata* with *L. tuberosa* were observed to be distant from the other ingroup taxa with 100% Bootstrap support.

**KEY WORDS:** *Lactuca*, ITS/*trnL*-F, Phylogenetic, Systematic



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ .....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR .....	vii
ÖNSÖZ .....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Asteraceae Familyasının Morfolojik Özellikleri.....	2
1.2 <i>Lactuca</i> L. Cinsinin Morfolojik Özellikleri .....	2
1.3 <i>Lactuca</i> L. Cinsinin Sistematikteki Yeri .....	3
1.4 Moleküler Filogenetik .....	3
1.4.1 Moleküler Filogenide Kullanılan DNA Çeşitleri.....	4
1.4.2 ITS (İç Transkribe Alanlar Bölgeler) nrDNA Bölgesi .....	5
1.4.3 trnL-F Bölgesi.....	9
1.4.4 Moleküler Sistematikte Kullanılan Yöntemler .....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
2.1 Materyal.....	14
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri .....	14
2.1.2 Kullanılan Cam ve Plastik Malzemelerin Hazırlanması.....	14
2.1.3 Kullanılan Kimyasallar .....	15
2.2 Yöntem .....	18
2.2.1 Genomik DNA İzolasyonları .....	18
2.2.2 DNA Saflık ve Miktar Tayini .....	20
2.2.3 PZR Uygulaması.....	21
2.2.4 Agaroz Jel Elektroforezi .....	22
2.2.5 PZR (veya PCR) Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	23
2.2.6 Filogenetik Analiz.....	23

3. BULGULAR.....	24
3.1 Bitki Örneklerinin Toplanması.....	24
3.2 DNA İzolasyonu.....	25
3.3 PZR Reaksiyonları .....	26
3.4 Dizileme Reaksiyonları .....	27
3.5 Dizilerin İşlenmesi .....	27
3.6 Dizilerin Hizalanması.....	28
3.7 Filogenetik Analiz .....	28
4. SONUÇ VE TARTIŞMA .....	30
4.1 ITS Dizilerine Dayalı Yapılan Filogenetik Analiz .....	30
4.2 trnL-F Dizilerine Dayalı Yapılan Filogenetik Analiz .....	35
4.3 ITS ve trnL-F Dizilerine Dayalı Filogenetik Analiz .....	39
5. KAYNAKLAR .....	43
6. EKLER.....	49



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1	: Kloroplast genomu .....	4
Şekil 1.2	: ITS bölgelerinin gösterimi.....	5
Şekil 1.3	: DNA üzerindeki ITS bölgeleri (Baldwin, 1995).....	8
Şekil 1.4	: <i>trnL</i> -F bölgesi (Pirie vd., 2007; Yang and Pak, 2006).....	10
Şekil 3.1	: <i>Lactuca</i> örneklerinin gDNA görüntüsü.....	25
Şekil 3.2	: <i>Lactuca</i> örneklerinin gDNA görüntüsü.....	25
Şekil 3.3	: Bazı <i>Lactuca</i> türlerinin ITS ile yapılan PCR görüntüsü.....	26
Şekil 3.4	: Bazı <i>Lactuca</i> Türlerinin <i>trnL</i> -F ile Yapılan PCR Görüntüsü.....	26
Şekil 3.5	: Bioedit programından dizi görüntüsü.....	27
Şekil 3.6	: Dizilerin hizalanması.....	28
Şekil 4.1	: ITS verilerine dayalı Branch and Bound ağacı .....	31
Şekil 4.2	: ITS verilerine dayalı Bootstrap ağacı .....	32
Şekil 4.3	: ITS verilerine dayalı heuristic search ağacı .....	33
Şekil 4.4	: ITS verilerine dayalı NJ ağacı .....	33
Şekil 4.5	: ITS verilerine dayalı UPGMA ağacı .....	34
Şekil 4.6	: <i>trnL</i> -F verilerine dayalı Branch and Bound ağacı.....	36
Şekil 4.7	: <i>trnL</i> -F verilerine dayalı Bootstrap ağacı .....	37
Şekil 4.8	: <i>trnL</i> -F verilerine dayalı heuristic search ağacı.....	38
Şekil 4.9	: <i>trnL</i> -F verilerine dayalı NJ ağacı .....	38
Şekil 4.10	: <i>trnL</i> -F verilerine dayalı UPGMA ağacı. ....	39
Şekil 4.11	: ITS ve <i>trnL</i> -F verilerine dayalı branch-bound ağacı.....	40
Şekil 4.12	: ITS ve <i>trnL</i> -F verilerine dayalı Bootstrap ağacı. ....	41
Şekil 4.13	: ITS ve <i>trnL</i> -F verilerine dayalı heuristic search ağacı. ....	41
Şekil 4.14	: ITS ve <i>trnL</i> -F verilerine dayalı NJ ağacı. ....	42
Şekil 4.15	: ITS ve <i>trnL</i> -F verilerine dayalı UPGMA ağacı.....	42

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1</b> : gDNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar .....	15
<b>Tablo 2.2</b> : PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar .....	16
<b>Tablo 2.3</b> :5X TBE tamponunda kullanılan kimyasallar .....	17
<b>Tablo 2.4</b> : ITS primeri için uygulanan PCR programı .....	21
<b>Tablo 2.5</b> : <i>trnL</i> -F primeri için uygulanan PCR programı .....	22
<b>Tablo 3.1</b> : Bitki örneklerinin toplandığı lokaliteler .....	24

## KISALTMALAR

<u>Kısaltma Adı</u>	<u>Tanımı</u>
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
SSR	: Basit Dizi Tekrarları
VNTRs	: Çeşitli Sayıda Ardışık Tekrarlar
ISSR	: Basit İç Dizi Tekrarları
SCAR	: Belirlenmiş ve Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
CAPS	: Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
ESTs	: İşaretli İfade Edilen Diziler
ASAP	: Allele Özgü Birleşen Primerler
SNP	: Tek Nükleotit Polimorfizmi
SSCP	: Tek Zincir Konformasyonel Polimorfizm
STS	: Dizisi Etiketlenmiş Alanlar
SPAR	: Tek Primerle Çoğaltılmış Reaksiyon
SRAP	: Diziye İlişkin Çoğaltılmış Polimorfizm
ITS	: Internal Transcribed Spacer
cDNA	: Complementary DNA (Komplementer DNA)
dNTP	: Deoksiribonükleosid Trifosfat
ddNTP	: Dideoksiribonükleosid Trifosfat
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
mtDNA	: Mitokondri DNA" sı
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
gDNA	: Genomik DNA
TE	: Tris-EDTA
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
MP	: Maximum Parsimony

<b>ML</b>	:	Maximum Likelihood
<b>PAUP</b>	:	Phylogenetic Analysis Using Parsimony
<b>PHYLIP</b>	:	The Phylogeny Inference Package
<b>bp</b>	:	Baz Çifti
<b>DNA</b>	:	Deoksiribonükleik Asit
<b>ETS</b>	:	External Transcribed Spacer
<b>IGS</b>	:	Intergenic Spacer
<b><i>mat K</i></b>	:	Maturase K geni
<b>cpDNA</b>	:	Kloroplast DNA
<b>NOR</b>	:	Nükleolar Organizer Region
<b>nrDNA</b>	:	Nüklear Ribozomal DNA
<b>ETOH</b>	:	Etil Alkol / Etanol
<b>rpm</b>	:	Dakikadaki Döngü Sayısı
<b>TBE</b>	:	Tris-Borikası- EDTA
<b>UPGMA</b>	:	Unweighted Pair-Group Method of Arithmetic
<b>NJ</b>	:	Neighbour Joining
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	:	Distile Su
<b>NaCl</b>	:	Sodyum Klorür
<b>NaAc</b>	:	Sodyum Asetat
<b>L.</b>	:	Linne
<b>T<sub>m</sub></b>	:	Erime Sıcaklıkları
<b>NCBI</b>	:	National Center For Biotechnology Information
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	:	Magnezyum Klorür



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimimin her aşamasında benim daha fazla gelişmemi sağlayan, bilgi ve tecrübeleriyle bana her konuda yardımcı olan danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Fatih COŞKUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerim boyunca gerek kimyasal ve sarf malzeme sıkıntısı çektiğim zamanlarda ve gerekse bilgi ve tecrübelerine ihtiyacım olduğum zamanlarda desteğini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a teşekkür ederim.

Bitki materyallerinin bir kısmının temin edilmesinde yardımcı olan Sayın Yard. Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında bana her türlü yardımda bulunan desteğini her zaman hissettiğim manevi ağabeyim değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Emre SEVİNDİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez ve laboratuvar çalışmalarım sırasında benden bilgisini esirgemeyen hocalarım Araş.Gör.Dr. Berna SANÖN, Araş. Gör. Dr. Görkem DENİZ SÖNMEZ ve Uzm. Gülçin ÇETİN'e ve arkadaşlarım Tuğba ÇAKMAK, Özge TOK, Özgün SALI, Kadriye GÜVEN ve Süheyla Ayfer ALKAÇ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi yüksek lisans çalışmalarım da maddi manevi desteklerini esirgemeyen çekirdek aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## 1. GİRİŞ

Türkiye çok zengin bir floraya sahiptir. Türkiye'nin çok zengin bir floraya sahip olmasında Türkiye'nin coğrafi konumu, çeşitli iklimsel faktörlerin etkisi, topoğrafik ve jeolojik yapısı ve değişik toprak tiplerinin bulunması etkilidir. Türkiye, İran-Turan, Akdeniz ve Avrupa-Sibirya gibi üç ayrı fitocoğrafik bölgenin birleştiği bir yerde bulunmaktadır. Anadolu'ya doğudan İran-Turan, güneyden Akdeniz ve kuzeyden Avrupa-Sibirya elementlerinin girerek populasyonlar oluşturmaları bu zenginliğin başlıca nedeni olmuştur (Davis *et al.*,1982).

Türkiye, endemik bitkiler bakımından dünyanın en zengin ülkeleri arasında yer almaktadır. Türkiye, Avrupa ülkelerinin toplam yüzölçümü alanının onbeşte biri kadar bir alana sahiptir. Buna karşın, Avrupa'da toplam 12000 adet eğrelti ve tohumlu bitkinin 2750 adeti endemik iken, ülkemizde yer alan 12000 bitki türünün 3000'den fazlası endemik olup, dünyanın başka hiçbir yerinde yetişmemektedir (Özhatay ve Kültür, 2005).

Endemik bitki türleri açısından Türkiye'nin en zengin familyası *Asteraceae* (*Compositae*)'dir. Ayrıca *Asteraceae* (*Compositae*) familyası endemik olmayan türlerce de zengindir (Erik ve Tarıkahya 2004). Familya üyeleri dünyada geniş yayılış göstermektedir. Özellikle Akdeniz Bölgesi, Meksika ve Güney Afrika gibi tropik ve subtropik yarı kurak bölgelerde, Afrika, Güney Amerika ve Avustralya'nın ormanlık bölgelerinde, kırlarda ve çalı formasyonlarında temsil edilmektedir (Heywood,1978).

ITS ve *trnL-f* bölgeleri, bitkilerdeki moleküler sistematik çalışmalarda son yıllarda çok sık kullanılan bir bölgedir. ITS bölgeleri ile yapılan çalışmalarda taksonların nrDNA ITS bölgeleri PCR yöntemleri ile çoğaltılıp, baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki filogenetik ilişkiler belirlenebilmektedir. *trnL-F* bölgesi ile yapılan çalışmalarda ise cpDNA *trnL-F* bölgesi ise aynı şekilde PCR yöntemi ile çoğaltılıp baz polimorfizmine bakılarak yine filogenetik ilişkiler belirlenebilmektedir.

## 1.1 Asteraceae Familyasının Morfolojik Özellikleri

Compositae, tek yıllık ve çok yıllık otsular veya bazen çalı şeklinde olan bazıları latisifer (= süt boruları) içeren entomofil (= entomogam ) bitkilerdir. Yaprakları alternat veya bazen karşılıklı, stipulsuz, tam kenarlı, değişik şekillerde parçalı olup, nadiren hepsi tabandadır. Çiçek birimleri (kapitula), çok sayıda çiçekten oluşmaktadır. Nadiren tek çiçeklidir. Çiçekler sapsızdır ve çok sıralı fillariler (brakteler) den oluşan koruyucu bir involukrum sarılı kapitulumda toplanmıştır (Seçmen vd., 1998; Doğan ve Sorkun, 1999). Çiçekler ya erdişi ya da tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçeklerde kaliks, papus biçiminde olabileceği gibi halka veya pul biçiminde de olabilmektedir. Bazen ise çiçeklerde kaliks bulunmamaktadır. Ovaryum alt durumlu (inferior), iki karpelden meydana gelmiş tek ovüllü, meyve tipi akendir, tepesinde bazen bir papus, bazen kaliks artığı bulunur. Familya bitkilerin çoğu Compositae tipi salgı tüyü ve örtü tüyleri taşır [Tanker vd., 1998).

## 1.2 *Lactuca* L. Cinsinin Morfolojik Özellikleri

Tek veya iki yıllık bir bitki olup çok dallanır ve 25 – 150 cm boylanabilmektedir. Gövde genellikle beyazımtırak, yeşil, dik ve süt içerir. Yapraklar uzun, hafif parçalıdır. Yaprakların arka damarı ve gövde üzerinde dikenimsi tüyler vardır. Yapraklar gövdeden sapsız olarak çıkar. Çiçek tablası küçüktür ve açık sarı 7-15 çiçekten oluşmuştur. Temmuz - eylül aylarında çiçek açar. Tohumlar eliptik şekilli grimsi-siyah renkli, parlak, 3 - 4 mm uzunlukta, 0,9 - 1,5 mm genişlikte ve 0,4 - 0,5 mm kalınlıktadır. Tohumun alt kısmı dar ayrıca yan yüzlerde çok sayıda uzunlamasına çizgi bulunur. Pappusları beyaz ve narindir.



### 1.3 *Lactuca L.* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Regnum: Plantae

Divisio: Spermatophyta

Classis: Magnalopsida

Ordo: Asterales

Familia: Asteraceae

Genus: *Lactuca*

### 1.4 Moleküler Filogenetik

Son yıllarda bitkilerin tanımlanmasında morfolojik karakterlerin yanı sıra moleküler verilerin de kullanılması hız kazanmıştır (Mummenhoff vd.,1997; Liu vd.,2002; Graham ve Olmstead., 2000) Yüksek yapılı bitkiler çekirdek genomu ve organel genomuna (kloroplast ve mitokondri) sahiptirler. Çekirdek genomu lineer yapıdadır ve eşeyli kalıtımlanır. Fakat kloroplast ve mitokondri genomları genellikle anasal kalıtımlanır ancak babasal olarak ve iki ebeveynden de kalıtıldığı rapor edilmiş olup halkasal yapıdadır.

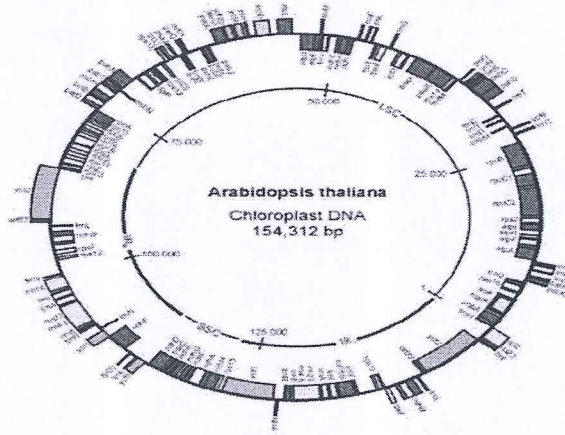
Moleküler sistematik çalışmalarda hem çekirdeğe ait hem de organellere ait genom veri kaynağı olarak kullanılabilir. Mitokondri DNA'sı oldukça değişken bir yapı gösterir. Bu nedenle bitki sistematğinde daha çok çekirdek genomundaki ve kloroplast genomundaki özel bölgeler kullanılır. Moleküler veriler önceden bilinen klasik taksomik yöntemlerle tam olarak aydınlatılamayan sistematik problemleri etkin bir şekilde çözmektedir. Bu amaçla kullanılan moleküler yöntemlerden birisi de nrDNA bölgesi üzerinde bulunan ITS bölgeleri'dir (Baldwin ve Markos., 1999). Bu bölge sistematik çalışmalarda son yıllarda sıklıkla kullanılan bir bölge haline gelmiştir (Froslev vd., 2005 ; Fior vd., 2006). Bu tür çalışmalarda, taksonların nrDNA ITS bölgeleri çoğaltılıp baz polimorfizmine bakılarak taksonlar arasındaki filogenetik ilişkiler belirlenmektedir.



## 1.4.1 Moleküler Filogenide Kullanılan DNA Çeşitleri

### 1.4.1.1 Kloroplast Genomu

Kloroplast DNA'sı (cpDNA), mtDNA gibi kapalı, halkasal bir moleküldür. cpDNA da yarı korunumlu olarak kendini eşler ve anne tarafından kalıtılır. Çiçekli bitkilerin kloroplast genomu 120-217 kilobaz uzunluğunda yüksek derecede korunmuştur. Çok fazla kodlanmayan bölge içermediği için nükleer genoma göre çok daha yavaş hızla evrimleşir (Soltis vd., 1997; Pillay ve Mazzella .,1997). Bir çok türde genom küçük ve büyük eşsiz dizi bölgeleri içerir ve bunlar bir çift ters tekrarlar birbirinden ayrılır (Doebly ve Blanton ., 1987). Bitki filogenetik çalışmalarında kloroplastın kullanılmasının sebeplerini ise şu şekilde sıralayabiliriz: cpDNA'sının yapısal kararlılığı, haploid (n) olması, genelde uniperantal aktarılması, rekombinant olmamasıdır (Small vd., 2004).



Şekil 1.1 :Kloroplast genomu

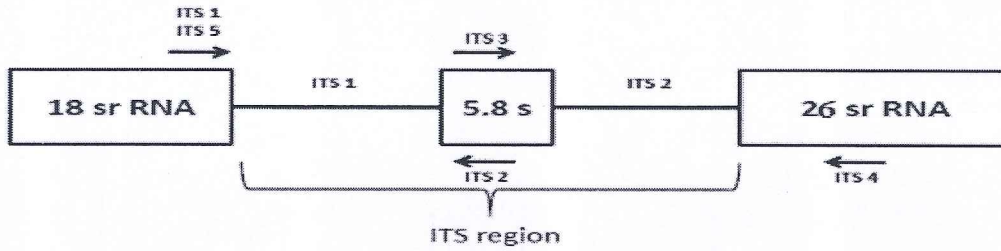
### 1.4.1.2 Çekirdek Genomu

Çekirdek genomunun büyüklüğü organizmalar arasında çeşitlilik gösterir. Bu çeşitliliğin kaynağı ise genlerde meydana gelen; duplikasyon, delesyon, poliploidi ve mutasyonlardır. Genetik sürüklenmede çeşitliliğe sebep olan diğer faktörlerdendir. Bu durum, çekirdek genomunun filogenetik anlamda bilgi verebileceğini gösterir.

Kromozom sayısı ve karyotipteki varyasyonlar bitkilerin gelişiminin incelenmesi açısından oldukça önemli verilerdir (Zhang ve Sang ., 1999).

#### 1.4.2 ITS (İç Transkribe Alanlar) nrDNA Bölgesi

Bazı nedenlerden dolayı bitki türlerinin doğal ortamlarında tanıma ve teşhis edilmesinde bir takım güçlükler yaşanmaktadır. Teşhis anahtarlarında kullanılan fenetik karakterler bazen ayırt edici olmayabilir. Yapılan birçok araştırmada bazı bitkilerin teşhisinin yanlış olduğu ortaya çıkarılmıştır. Moleküler sistematik alanında yapılan çalışmalar ile türe özgü gen bölgelerinin bulunması ile bitki türlerinin teşhis edilmesi kolaylaşmıştır. Bu neden ile rDNA'nın ITS bölgeleri, bitki moleküler sistematik çalışmalarda sürekli başvurulan yöntem olmuştur (Baldwin vd., 1995). Çekirdeğe ait olan DNA parçası ITS bölgesi, kodlanmayan iki değişken bölgeden oluşmaktadır. ITS-1 ve ITS-2 adı verilen boşluklar 18S, 5,8S ve 26S korunmuş bölgeler arasında bulunmaktadır. ITS-1 bölgesi, küçük alt birim (SSU) ile 5,8S alt birimi arasında, ITS-2 bölgesi, büyük alt birim (LSU) ile 5,8S arasında yer almaktadır. ITS-1 ve ITS-2 yaklaşık 300 bp uzunluğundadır. 5,8S alt ünitesi ise 164 bp uzunluğundadır (Baldwin, 1992). ITS bölgesinin her iki tarafında korunmuş diziler mevcuttur. Bu nedenle evrensel primer olarak nitelendirilmektedirler.



Şekil 1.2 :ITS bölgelerinin gösterimi (White vd.,1990)

ITS bölgeleri, nükleer ribozomal RNA'ların (nrRNAs) işlevlerinin düzenlenmesinde belirgin bir role sahiptir. ITS-1'in (18S-5.8S) belirli bölgelerinde meydana gelen delesyonlar, rRNA'ların küçük ve büyük alt ünitelerinin olgunlaşmasını engellediği belirlenmişken, ITS-2 (5.8S -26S) bölgesindeki belirli delesyonlar ve nokta mutasyonları rRNA'nın büyük alt ünitesinin gelişmesini

engellediği gözlenmiştir. Bu durum, bu bölgelerin her ne kadar translasyona uğramasa bile rRNA'lar için önemli bir bölge olduğunun kanıtı olup rRNAların yapısına katıldığını göstermektedir (Baldwin, 1995).

#### **1.4.2.1 ITS Bölgesinin Genel Özellikleri**

1-) Filogenetik analiz için uygun bir büyüklüğe sahip olması (600-700bp). Bu primerlerin modifiye edilmiş formları kullanılarak bölge istenildiği şekilde çoğaltılabilmektedir.

2-) Genomik DNA üzerinde yüksek kopyaya sahiptirler. Bu bölgelerin korunmuş rDNA gen bölgelerine göre daha fazla değişkenlik gösterdiği bulunmuştur.

3-) Korunmuş bölgeler arasında bulunması sebebiyle ITS bölgesinin çoğaltılması ve dizilenmesi için evrensel bir primer olarak kullanıldığı tespit edilmiştir.

4-) ITS1 ve ITS2 bölgelerinin filogenetik açıdan sundukları veriler değişik düzeydedir. Bu bölgelere bağlı analizlerde ITS1 verileri, daha fazla filogenetik çözüm sunmakta olup, nükleotid içeriği ITS2'ye göre yaklaşık %29 oranında daha değişkendir.

5-) Cins ve tür seviyesindeki filogenetik analizlerde DNA içerikleri, açıklayıcı veriler sunmaktadır.

6-) rDNA'nın olgun 18S, 5,8S ve 28S alt birimlerinin oluşumunda görev almaktadır.

7-) Ökaryotik organizmalarda 5,8S gen bölgesi, çoğunlukla ITS bölgeleri ile birlikte analiz edilmektedir (Baldwin, 1995; Çebi Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

#### **1.4.2.2 ITS Bölgesinin Filogenetikte Kullanımı**

1-) ITS bölgeleri filogenetik analizlerde fazla tercih edilmektedir. Bunun sebebi filogenetik analizler için yeterli bir büyüklüğe sahiptir.



2-) Cins ve tür içi seviyelerde ileri derecede korunmuş rDNA bölgelerine komşu olarak bulunmaktadır.

3-) DNA değerlendirmelerinde bir çok gruplarda ITS dizilerinin, cpDNA baz dizinlerinden çok fazla değişken olduğu tespit edilmiştir.

4-) rDNA tekrarlarının yüksek kopya sayısı nedeniyle küçük ebatta olan ITS bölgeleri PCR ile çoğaltmak oldukça kolaydır. Bu durum ITS bölgelerinin tercih edilmesini çekici kılmıştır.

5-) ITS bölgelerinin, hibrit taksonlara yönelik filogenetik çalışmalarda kullanılması uygun değildir. Bunun nedeni, hibritlerden elde edilecek ITS bölgesi dizisinin hangi atasal genomdan çoğaltıldığına bilinmemesi, güvenilir olmayan sonuçlara neden olacaktır (Baldvin, 1995).

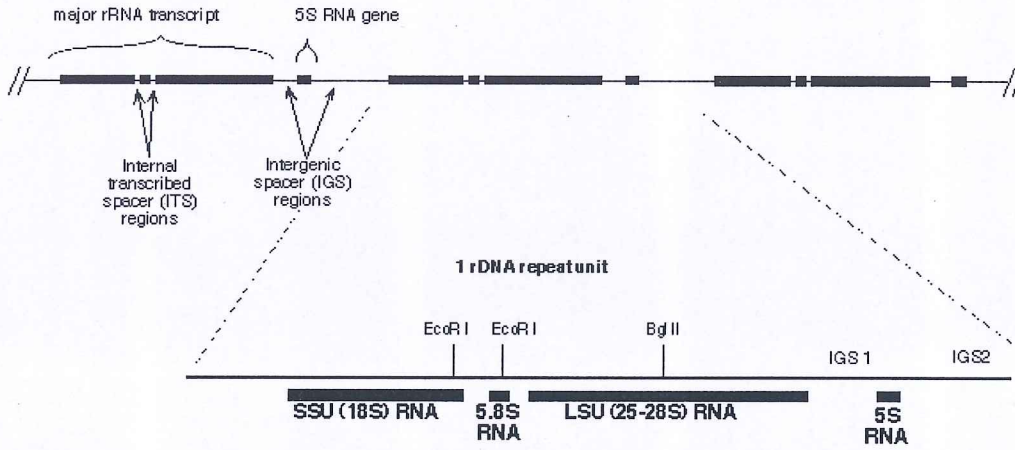
#### 1.4.2.3 rDNA ve ITS Bölgeleri Arasındaki İlişki

ITS (internal transcribed spacers) bölümleri cins ve tür düzeyinde yapılacak filogenetik bir çalışma için en güvenilir metotlardandır. Bu nedenle ribozomal DNA internal transcribed spacers (rDNA ITS) bitki sistematigi ve tanımlamada sahip oldukları genomik bölümlerin işlevi ile paralel olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanımdaki avantajı ribozomal DNA"nın yüksek düzeyde konservatif genlere sahip olması ve ITS bölümleri arasında konumlanmasıdır. ITS1 ve ITS2 bölgeleri ribozomal transkripsiyon ürününün bir parçası olmasına karşın olgun ribozomal alt birimlerinin yapısına dahil edilmezler (Baldvin, 1992).

Genomik DNA üzerindeki rDNA bölgeleri, çoklu gen yapılarından oluşur ve ardışık sıralanmış tekrarlı diziler şeklindedir. rDNA tekrarları; genomik DNA"nın NOR (Nükleolar Organizer Region) bölgelerinde yerleşmiş durumdadır ve 18S küçük alt birim, 5.8S ve 28S büyük alt birim rDNA"ları kodlayan genlerden oluşmaktadır. ITS bölgeleri, genomik DNA üzerindeki bu rDNA tekrarları içinde yerleşmiştir. Bu bölgeler, rDNA"nın alt birimleri ile transkribe edilmektedir ve korunmuş bölgeleri (18S, 5.8S ve 28S) birbirinden ayıran iki kısımdan (ITS1 ve ITS2) oluşmaktadır (Baldwin, 1995). Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine



bağlanabilen evrensel primerler kullanılarak PCR çalışmalarıyla kolaylıkla elde edilebilmektedir. Bunun için kullanılan evrensel ITS (ITS2, ITS3, ITS4 ve ITS5) primerlerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri şekil 1.42 de gösterilmiştir.



Şekil 1.3 : DNA üzerindeki ITS bölgeleri (Baldwin, 1995).

ITS-1'in (18S-5.8S) belirli bölgelerinde meydana gelen delesyonlar, rRNA'ların küçük ve büyük alt ünitelerinin olgunlaşmasını engellediği belirlenmişken, ITS-2 (5.8S -26S) bölgesindeki belirli delesyonlar ve nokta mutasyonları rRNA'nın büyük alt ünitesinin gelişmesini engellediği gözlenmiştir. Bu durum, bu bölgelerin her ne kadar translasyona uğramasa bile rRNA'lar için önemli bir bölge olduğunun kanıtıdır (Baldwin, 1995).

#### 1.4.2.4 rDNA Bölgeleri

##### 1.4.2.4.1 Küçük Alt Birim rDNA (18S)

Küçük alt birim rDNA" sı yüksek derecede korunmuş bir bölgedir. Alem, şube ve sınıf seviyesindeki filogenetik çalışmaların yeniden inşası için sıklıkla kullanılmaktadır (Baldwin, 1992). Küçük alt birim rDNA baz sıraları, fungal soyların sistematüğinde, Angiospermilerin sistematüğinde ve hayvanların sistematüğünde farklı

taksonomik seviyelerde filogeninin yeniden inşasında kullanılmaktadır (Freeman vd., 1999).

#### 1.4.2.4.2 5.8 SrDNA

5.8S rDNA tekrar birimleri içinde en küçük uzunluğa sahip olanıdır. Nükleotit içeriği ileri derecede korunmuş olan 5.8S rDNA büyük alt birimin bir parçasıdır. Bu bölgenin baz uzunluğu (163–164 bp) yeterince uzun olmadığından filogenetik çalışmalarda tek başına kullanılmamaktadır. Bu nedenle filogenetik analizlerde, ITS bölgeleriyle birlikte değerlendirilmektedir (Freeman vd., 1999).

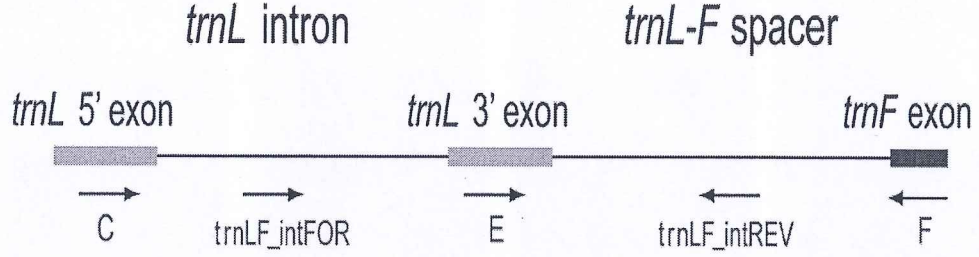
#### 1.4.2.4.3 Büyük Alt Birim rDNA (28S)

Büyük alt birim rDNA, küçük alt birim rDNA" ya göre daha uzundur ve baz içeriği açısından daha fazla varyasyon göstermektedir. rDNA genlerinin gösterdiği varyasyonlar akraba türlerin teşhisinde yeterli bilgi sunmamaktadır. Bu nedenle rDNA genlerinin gösterdiği varyasyonlardan, familya ve daha yukarı seviyelerde faydalanılmaktadır (Baldwin., 1992).rDNA tekrarlarının ITS ve IGS bölgeleri, yüksek oranda varyasyon gösterdiğinden cinsler arasında, tür seviyesinde ve populasyon çalışmalarında karşılaşılan taksonomik problemleri çözmede kullanılmaktadır. Ancak IGS (4–5kb) bölgelerinin ITS bölgelerine göre daha uzun parçalara sahip olması ve dizi analizindeki zorluk nedeniyle, filogenetik çalışmalarda çoğunlukla ITS bölgeleri kullanılmaktadır (Freeman vd., 1999).

#### 1.4.3 *trnL-F* Bölgesi

DNA temelli kladistik analizler, morfolojik olarak çözülemeyen türlerin sınıflandırılmasına yardım etmektedir (Fior vd., 2006). Kloroplast DNA (cpDNA) dizi varyateleri, geniş ölçüde angiosperm ve diğer bitkiler arasında interspesifik akrabalıkları araştırmaktadır.Bu sebep ile filogenetik değerlendirmede kullanılmaktadır. Ancak bu moleküllerin düşük oranda evrimsel oranı intraspesifik

derecede sınırlayıcıdır (Taberlet vd., 1991; Türkteş vd., 2012). Kodlamayan bölgelerden biri; cpDNA parçalarıdır, en geniş kullanımıyla familya altında filogenetik akrabalık adresi olmalarından dolayı, t-RNA (*trnT-trnF*) bölgesi yaygın olarak çalışılır.



Şekil 1.4 :*trnL-F* bölgesi (Pirie vd., 2007; Yang and Pak, 2006).

Genler arası boşluk *trnL* (UAA) 3'ekzonu ve *trnF* (GAA) geni arasında yer almaktadır (Taberlat vd., 1991; Gielly ve Taberlat 1996; Gielly ve Taberlat 1994; Liu vd., 2005). *trnL* geni iki korunmuş ekzon içerir. Bunlar bir grup intron tarafından bölünmüştür. Bu bölge, yüksek oranda yerdeğiştirme oranına sahiptir. Bu sebep ile türler arası filogenetik analizlerde kullanılmaktadır (Yang and Pak., 2006). Bu bölgenin *rbcL*'e göre evrimsel hızı yaklaşık 3 kat daha fazladır. Bu bölgeler kolay bir şekilde çoğaltılıp dizilenmektedir (Taberlet vd., 1991). Monokotil ve dikotillerde *trnL-trnF* bölgesinin nükleotid sayısı hemen hemen 120-350 bp arasında değişmektedir.

#### 1.4.4 Moleküler Sistemikte Kullanılan Yöntemler

##### 1.4.4.1 RFLP ( Restriction Fragment Length Polymorphism)

Hibridizasyona dayalı ilk moleküler belirteçlerdendir (Saiki vd., 1998 ; Angiolillo vd., 1999; Amane vd., 1999). Dokulardan izole edilen gDNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan restriksiyon enzimlerince kesilmesi esasına dayanır. DNA parçalarının büyüklük esasına göre agaroz ya da poliakrilamid jel elektroforezinde ayrılır. DNA parçaları elektroforezde ayrıldıktan sonra jelde uygun bir boyama



teknikiyle görünür hale gelir. Daha sonra naylon ya da nitroselüloz membrana transfer edilerek DNA problemleriyle etiketlenir. Parçalarla probun hibridizasyonu otoradyografi yöntemi ile açığa çıkartılır [54,55]. Yapılan araştırmalar; RFLP" nin filocografya, hibrit bölgeler, ve angiospermiler ile ilgili çalışmalarda güvenle kullanılabileceğini göstermiştir (Remi vd., 2001; Motomi vd., 2000).

RFLP yönteminin avantajları:

- a) Güvenilirdir.
- b) Kodominant özellik gösterirler bu yüzden heterozigotların belirlenmesinde kullanılabilir.
- c) Polimorfizm oranı orta düzeydedir.
- d) Bir türde RFLP belirteci bir kez haritalandığında akraba pek çok tür için o haritalama bölgesinde potansiyel bir belirteç belirlenmiş olur (Rosa vd., 2003)

RFLP yönteminin dezavantajları:

- a) Analizler pahalı ve zaman alıcıdır.
- b) Yüksek iş gücü gerektirmektedir.
- c) Fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya ihtiyaç vardır (Yıldırım ve Kandemir., 2001).

#### **1.4.4.2 AFLP ( Amplified Fragment Length Polymorphism)**

AFLP tekniği, RFLP tekniğinin güvenilirliğinin PCR tekniğinin katılmasıyla oluşturulan bir yöntemdir. AFLP tekniğinin polimorfizm oranı çok yüksek olup çok sayıda lokusu aynı anda ve etkili bir şekilde taraması nedeni ile parmak izi analizine çok uygundur. AFLP analizleri ile heterozigot ve homozigot bireyler arasındaki farklılıklar saptanabilmektedir. Çoğunlukla dominant markörler vermesi ve farklı genetik haritalar arasında transferinin güç olması AFLP tekniğinin en önemli dezavantajlarından biridir (Kaçar, 2001).

AFLP yönteminin avantajları:

- a) Polimorfizm oranı yüksektir.
- b) Çok sayıda ve aynı anda tarama yapılabilir bu yüzden parmak izi analizlerine uygundur.
- c) RFLP'den hızlı, RADP'den yavaştır.
- d) DNA'da ilgilenilen bölgeyle ilgili ön bilgiye ihtiyaç yoktur (Walton, 1993).

AFLP yönteminin dezavantajları:

- a) Çoğunlukla dominant markır verirler.
- b) Pahalı bir tekniktir.
- c) Fazla miktarda ve saf DNA'ya gereksinim duyar (Walton, 1993).

#### **1.4.4.3 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

RAPD tekniği ilk olarak Williams ve arkadaşları tarafından farklı bireylere ait insan DNA örneklerini ayırt etmek amacıyla kullanılmıştır. RAPD amplifikasyonu PCR temelli bir reaksiyondur. Kullanılan DNA ise gDNA'dır. RAPD yönteminin temel prensibi ilgili olan türe ait gDNA üzerinde rastgele seçilmiş, tek bir 9-10 bp oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Tekniğin devamında elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve çoğaltma ürünleri bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir (Williams vd., 1990; Welsh ve McClelland ., 1990).

#### **1.4.4.4 SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions)**

Bir polimorfik RFLP veya RAPD ürünü kopyalanır. Ardından dizi analizi yapılır. Bu özel fragmentlere uygun 2-24 nukleotitlik PCR primeri sentezlenir. Primerler PCR ile çoğaltılır. Çoğaltılmış primerler bir kesim enzimleri ile kesilir. Sonuç olarak DNA'daki büyüklük değişimi tespit edilir (Akkuş, 2006). RAPD ve ISSR gibi belirteç spesifitesi düşük olan belirteçlerin gücü, bu yöntemle artırılır. PCR metodu olduğundan, yüksek kalitede ve miktarda DNA'ya ihtiyaç yoktur. Tekrarlanabilme kapasitesi oldukça yüksektir

#### **1.4.4.5 SPAR (Single Primer Amplification Reaction)**

SPAR, deney başına çoklu markır üreten bir DNA markır sistemidir. Kullanılan primerler SSR tabanlıdır ve SSR'ler arası DNA dizileri çoğaltılır. Polimorfizmin düzeyi tür içindeki genomik çeşitliliğe bağlıdır. Çoğu DNA markır dağılık genom bölgelerini haritalar. Çoğu SSR-SPAR dominant karakterde olmasına rağmen kodominant olanları da saptanabilir (Gupta vd., 1994).



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örnekleri

Çalışmada kullanılan bitki örnekleri Yard. Doç. Dr. Fatih Coşkun, Yard. Doç. Dr. Mehmet Yavuz Paksoy, Öğr. Gör. Dr. Emre Sevindik ve Veysel UZUN tarafından toplanmıştır. Bazı taksonlar ise gen bankasından temin edilmiştir. Toplanan taksonların isimleri aşağıda verilmiştir. Tüm bitki örneklerinin lokaliteleri ve gen bankası numaraları ayrıca bulgular kısmında verilmiştir.

- *Lactuca serriola* L.
- *Lactuca saligna* L.
- *Lactuca sativa* L.
- *Lactuca scarioloides* Boiss.
- *Lactuca kemaliya* Yıld.
- *Lactuca viminea* (L.) J.Presl & C.Presl

#### 2.1.2 Kullanılan Cam ve Plastik Malzemelerin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan pipet uçları, mikropipetler, ependorf tüpleri, PCR tüpleri, çözeltiler, cam malzemeler ve ısıya dayanıklı diğer malzemeler çalışmaya başlamadan önce 121°C de 20 dakika süreyle 1 atmosfer basınçta otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Isıya karşı dayanıklı olmayan malzemeler kontaminasyonu önlemek amacıyla bir defa kullanılarak atılmıştır.

### 2.1.3 Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada yararlanılan kimyasallar, Merck ve Sigma Aldrich firmasından, PCR reaksiyonlarında kullanılan enzimler ve diğer solüsyonlar, Applichem, Biolabs ve Fermentas firmalarından temin edilmiştir.

#### 2.1.3.1 Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

##### 2.1.3.1.1 Fenol-Kloroform-İzoamik Alkol Yöntemine Ait Kimyasallar

Tablo 2.1 : gDNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar

Çözelti	Kompozisyon
Ekstraksiyon tamponu (1L)	33,6 gr Üre 0,5 M EDTA (pH: 8) 1 M Tris-HCl (pH:8) 5 M NaCl %10 SDS
Fenol/Kloroform/İzoamil alkol	25 : 24 : 1
NaAc	3 M pH : 5,2
İzopropil alkol	%100
TE (Tris – EDTA)	10 mM
RNaz A	10 mg / mL
Etanol (EtOH)	%70'lik ve %100 lük

### 2.1.3.1.2 Sigma Kiti ile Yapılan İzolasyon Kimyasalları

Bitki örneklerinin büyük çoğunluğunun genomik DNA'sı ticari kuruluşlardan satın alınan SIGMA Plant Genomic DNA Miniprep Kit ile izole edilmiştir. Kit ile birlikte gelen solüsyonlar şunlardır : Lysis Solution Part A, Lysis Solution Part B, Precipitation Solution, Binding Solution, Column Preparation Solution, Wash Solution Concentrate, Elution Solution (10 mM Tris, 1mM EDTA, pH yaklaşık 8.0)

### 2.1.3.2 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'da Kullanılan Kimyasallar

PZR'de kullanılan primerler Integrated DNA Technologies ( IDT A.B.D) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlerin DNA dizileri, erime sıcaklıkları (Tm) ve kaynakları tablo 2.3'de, kullanılan kimyasallar ve miktarları da tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2 :PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Miktarı	Konsantrasyonu
DNA	2	-----
MgCl <sub>2</sub>	1,5	25 mM
Primer Forward	2,5	pmol / mL
Primer Revers	2,5	pmol / mL
dNTP	0,4	10 mM
dH <sub>2</sub> O	10,8	-----
Taq DNA Polimeraz	0,3	5 Ünite
DMSO	1,5	-----



**Tablo 2.2'nin Devamı**

NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> Tamponu	2,5	10X
TOPLAM	25	

### 2.1.3.3 Agaroz Jel Elektroforez Tamponları

Agaroz jel elektroforezi DNA parçalarının ayrılması, tanımlanması ve saflaştırılması için kullanılan metottur. Bilim adamları DNA moleküllerinin ağırlıklarının logaritmalarına ters orantılı olduğu göstermişlerdir (Griffin., 1993). Çoğunlukla jel elektroforezinde bilinen büyüklükteki bir belirteç DNA ile uygulanır. Bu sayede moleküler olarak büyüklüğü bilinmeyen DNA molekül büyüklüğü kolay bir şekilde saptanmaktadır. Jelde, DNA bantları Etidyum Bromid (EtBr) ile boyanmıştır. Bu sayede bu ajan bize DNA molekülünün U.V altında rahat ve bilirgin görmemizi sağlamaktadır.

Agaroz jel elektroforezinde 0,5'lik TBE kullanılır. Bunun için hazırlanan stok solüsyon olan 5X'lik TBE seyreltilir. 5X TBE için kullanılan kimyasallar tablo 2.4'de verilmiştir.

**Tablo 2.3 :5X TBE tampionunda kullanılan kimyasallar**

<b>Kimyasalın Adı</b>	<b>Miktarı</b>
Tris-Base	54 g
Borik Asit	27.5 g
0.5 M pH:8 EDTA	20 ml
Saf Su	Üzeri 1 L'ye tamamlanır.

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1 Genomik DNA İzolasyonları

#### 2.2.1.1 Fenol-Kloroform-İzoamil Alkol Yöntemi

Çalışmada kullanılan bitkilerin az bir kısmı için manuel genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu metodun aşamaları şu şekildedir:

1-) Taze yapraklar veya herbaryum örneklerinden yaklaşık 1-2 g alınarak havanda sıvı azot ile toz haline getirildikten sonra ependorf tüpün yaklaşık 200ul' lik seviyesine kadar doldurulur. Sıvı azot uçtuktan sonra 600ul izolasyon tamponu eklenerek 5dk alt üst edilir.

2-) Üzerine 500ul Fenol-Kloroform-İzoamil alkol eklenir. 5 dk alt üst edilir.

3-) 12000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapılır.

4-) Üstteki süpernant 500ul lik temiz bir tüpe aktarılır. Alttaki posa atılır.

5-) Üstteki süpernant hacminin %10'u kadar 3M Sodyum Asetat (ph:5,2) eklenir.

6-) Üstüne 1 süpernant hacmi kadar oda sıcaklığında olan izopropanol eklenip alt üst edilir.

7-) 12000 rpm 'de 2dk. çöktürülür. Oluşan pellete zarar vermeden süpernant atılır. Oluşan pellet üzerine 500ul TE ( 10m u, ph: 8) eklenerek pipetajla pellet tamamen çözülür.

8-) Bu çözelti için 5 ul RNazA eklenerek alt üst edilir, pipetaj yapılır.

9-) 37 °C'de 30 dk. inkübe edilerek RNA'nın uzaklaşması sağlanır.

10-) Tekrar 50 ul NaAc eklenip alt üst edilir.

11-) 1000 ul %90'lık ETOH eklenerek alt üst edilir.

12-) Karışım -80 °C'de 10 dk. bekletilir.

- 13-) 13000 rpm' de 10 dk. santrifüj edilir. DNA'nın çökmesi sağlanır.
- 14-) Pellete zarar vermeden süpernant atılır.
- 15-) Kalan çökeltiye %70'lik ETOH'den 1000 ul konularak pipetaj yapılarak yıkanır. 12000 rpm'de 2 dk. santrifüj yapılır ve süpernant atılır.
- 16-) Oluşan çökeltinin ETOH tamamen uzaklaştırıldıktan sonra oluşan genomik DNA çözültüsü 50 ul TE ya da 200 ul saf su eklenerek pipetaj ile çözülür.

### 2.2.1.2 Sigma Kiti DNA İzolasyon Yöntemi

Bitki materyallerinden 100-200 mg alınır ve havanda sıvı azotla toz haline getirilir. 350 µL Lysis Solution (Part A) ve 50 µL Lysis Solution (Part B) eklenir. Vorteks yapılır ve 4µl RNaz pipetaj yapılarak eklenir. 10 dk boyunca 65°C'de su banyosunda bekletilir. Daha sonra 130 µL Precipitation Solution eklenir ve 5 dk buzda bekletilir. 5 dk maksimum hızda (16000 g) santrifüj yapılır. Sıvı kısım alınır ve mavi filtrelili tüpe aktarılır. Kalan çökelti tüpüyle beraber çöpe atılır. Mavi filtrelili tüp 1 dk maksimum hızda santrifüj edilir. Daha sonra kolon atılır ve ependorf tüp kalır. Üzerine 700 µL Binding Solution eklenir. Bu basamaklardan bağımsız olarak kırmızı kolonlu tüpler hazırlanması için kullanılacak her bir kırmızı kolonlu tüpe 500 µL Column Preparation Solution eklenir ve 1 dk 12000 g'de santrifüj yapılır. Sıvı atılır ve böylece kolon önceki basamaktaki 1000 µL sıvının geçirilmesi için hazır hale gelir. 1000 µL" lik karışımdan 700 µL kırmızı kolonlu tüpe aktarılır ve 16000 g'de 1 dk santrifüj yapılır. Sıvı atılır ve kırmızı kolon tüpe yeniden konulur. Daha sonra geriye kalan 300 µl" lik karışım da kolondan geçirilir ve maksimum hızda 1 dk santrifüj yapılır. Sıvı ve tüp atılır. Kolon yeni bir tüpe yıkanması için konur ve 500 µL Wash Solution eklenir. Maksimum hızda 1 dk santrifüj yapıldıktan sonra sıvı atılır ve tüp kalır. 500 µL Wash Solution eklenir ve maksimum hızda 3 dk santrifüj yapılır. Sıvı, kolona temas ettirilmeden atılır. Yeni 2ml" lik tüp çıkarılır ve içerisine kolon yerleştirilir. 100µl Elution Solution (kullanmadan önce 65°C'de ısıtılır) eklenir. Maksimum hızda 1dk santrifüj yapılır ve kolon sıvıya temas ettirilmeden çıkarılır. Böylelikle 1. Solüsyon hazır hale gelir. Yeni 2 ml'lik tüp hazırlanır ve kolon bu tüpe yerleştirilir. 100 µl Elution Solution (kullanmadan önce 65°C'de



ısıtılır) eklenir ve maksimum hızda 1 dk santrifüj yapılır. Kolon sıvıya temas ettirilmeden çıkarılır ve atılır. Böylelikle 2. Solüsyon da hazır hale gelmiş olur.

### 2.2.2 DNA Saflık ve Miktar Tayini

DNA, RNA ve oligonükleotitleri sıvı solüsyonlar içinde, U.V (Ultraviyole) ışığı altında sahip oldukları absorpsiyon A ( OD, Optik yoğunluk) üzerinden ölçülebilmektedir. Örnek saf olduğunda nükleotid bazları tarafından absorbe olan ultraviyole radyasyonun miktarı spektrofotometrik olarak basit ve doğru bir biçimde ölçülebilmektedir.

Nükleik asitlerin maksimum absorbans verdiği dalga boyu A260 'dır. Proteinlerin maksimum absorbans verdiği dalga boyu A280 'dır. Karbonhidrat, peptit, fenollerin ve aromatic bileşiklerin maksimum absorbans verdiği dalga boyu A230'dur. A260/A280 oranı nükleik asitlerin saflığı için kullanılır ve bu oran DNA için 1,8-2 arasında çıktığı zaman nükleik asit molekülleri saf olarak kabul edilmektedir. Saflık, 1,8'e yaklaştıkça DNA molekülleri için 2,0'a yaklaştıkça RNA molekülü için artmaktadır(Albayrak ve Yörük, 2012; Sanön, 2011).

Bitkiden izole edilen DNA moleküllerinin absorbans değerlerinin ölçümleri kuvars küvetler ile yapılmıştır. İlk başta küvetlerdeki bir kuyucuk kör (boş örnek) seçilmiştir ve buraya 200ul saf su konulmuştur. Küvetteki diğer kuyucukların her birine 5ul DNA ve 195 ul saf su konulmuştur. Daha sonra spektrofotometre ile A260 ve A280 değerleri ölçülmüştür. Spektrofotometrik sonuçlara göre çift zincirli DNA molekülünün miktar tayini için,  $A_{260} \times \text{sulandırım katsayısı} \times \text{OD değeri}$  (50ng/ul), RNA molekülünün miktar tayini için de,  $A_{260} \times \text{sulandırım katsayısı} \times \text{OD değeri}$  (40ng/ul) formülü ile hesaplanmaktadır(Albayrak ve Yörük., 2012).

### 2.2.3 PZR Uygulaması

PZR toplam reaksiyon hacmi 25µl olacak şekilde hazırlandı. PZR komponentleri Çizelge de ki miktarlarda 200 µl'lik tüplere konulmuştur. Karışıma en son enzim eklendi ve çalışma esnasında PZR komponentleri buz üzerinde muhafaza edildi.

#### 2.2.3.1 Kullanılan PCR Programları

##### 2.2.3.1.1 ITS Primeri İçin Uygulanan PZR Programı

Tablo 2.4 :ITS primeri için uygulanan PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön Isıtma	94 C °/ 5 dak.	1 Devir
1. Basamak	94 C °/ 45sn.	35 Devir
2. Basamak	50-55 C °/ 45sn	35Devir
3. Basamak	72 C °/ 2 dak.	35 Devir
4. Basamak	72 C °/ 10 dak.	1 Devir

### 2.2.3.1.2 *trnL-F* Primeri İçin Uygulanan PZR Programı

Tablo 2.5 :*trnL-F* primeri için uygulanan PCR programı

Basamak	Sıcaklık/Zaman	Devir Sayısı
Ön Isıtma	94 C °/ 5 dak.	1 Devir
1.Basamak	94 C °/ 30sn.	35 Devir
2.Basamak	50-55 C °/ 30sn	35Devir
3.Basamak	72 °/ 90sn	35 Devir
4.Basamak	72 C °/ 8dak.	1 Devir

### 2.2.4 Agaroz Jel Elektrofrez

Elektroforez, elektriksel bir alanın etkisi altında sıvı bir ortamda yüklü partiküllerin göçüdür. Farklı tipte elektroforez yöntemler olmasına karşın nükleik asitler için iyi sonuç veren ve 200-50.000 bp boyutları arasındaki DNA ve RNA moleküllerini tanımlamakta kullanılan standart yöntem agaroz elektroforezidir. Agaroz jel elektroforezi ile özellikle değişik kaynaklardan izole edilen DNA'ların veya enzim kesim ürünlerinin molekül ağırlıkları ve miktarları belirlenebilir. Aynı zamanda proteinlerin yüklerine göre ayrılmasında da kullanılmaktadır(Kotan, 2010).

PCR sonucunda oluşan bantların gözlenmesi için %0,8'lik agaroz jel elektroforezi yapıldı. Bunun için 0,8 g agaroz tartıldı ve 100 mL 1,0 X TAE tamponu içinde, mikrodalga fırında kaynatılarak çözüldü. Karışım 50°C'ye soğutularak içerisine 1-1,5 µL EtBr ilave edildi. Tampon, tarakları önceden yerleştirilmiş jel kasetine döküldü ve polimerleşmesi için 30 dk bekletildi. Jel polimerleştikten sonra kasetten taraklar çekilerek çıkartıldı. Hazırlanan jel, elektroforez tankına yerleştirilip üzeri kaplanıncaya kadar 1,0X TAE tamponu ile dolduruldu.



3 µL PCR ürünü, 2 µl yükleme boyası (6X DNA loading dye) ve 1ul dH<sub>2</sub>O eklenerek boyandı ve kuyucuklara mikropipet ile yüklendi. PCR ürününün büyüklüğünü belirleyebilmek amacıyla 5 µL DNA büyüklük belirleyici (1 kb DNA ladder) boş bir kuyucuğa yüklendi. Örnekler 120 voltta 30 dk yürütüldü. Daha sonra kullanılan jel, jel görüntüleme cihazına alındı. UV ışığı altında bantlar gözlemlendi ve jel görüntüleme cihazının bilgisayar programı ve fotoğraf makinesi yardımıyla fotoğrafları çekilip veriler kaydedildi.

### 2.2.5 PZR (veya PCR) Sonuçlarının Değerlendirilmesi

PCR reaksiyonları ve saflaştırılması Balıkesir Üniversitesi Temel Bilimler Araştırma Merkezi (BÜTAM) Biyoloji Laboratuvarlarında, kalan dizin (sekanslama) reaksiyonları ve saflaştırması da Balıkesir Üniversitesinde Otomatik DNA Dizileyicisi olmadığı için hizmet alımı olarak bu hizmeti veren ticari kuruluşlar aracılığıyla bir kısmı REFGEN biyoteknoloji firması ile, bir kısmında Ligand (İYTE) firması ile yapıldı.

Bu analiz sonuçlarının sağlıklı olması amacıyla görsel olarak DNA dizinlerinin doğruluğunun teker teker kontrol edilmesi gerekli olduğundan bu amaç ile üretilmiş olan Codoncode Aligner adlı profesyonel bilgisayar programı kullanıldı.

### 2.2.6 Filogenetik Analiz

Dizileri elde edilmiş olan *Lactuca* cinsine ait türlerin filogenetik ilişkilerini öğrenebilmek için tüm dünyada çok yaygın olarak kullanılan PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) 4.0b10 filogenetik analiz yazılımının uygun parametreleri kullanıldı. Bu parametrelerden karakter temelli metotlar kullanılırken en iyilik kriteri (Optimality criterion) olarak parsimoni kriteri seçilip, arama algoritması (Search algorithm) olarak Heuristic araştırma ve Bootstrap seçilmiştir. Yapılan analizlerde kullanılan kriterler ve karakterlerle ilgili veriler, sonuçlar ve tartışma bölümünde ayrıntılı olarak verilmiştir. Mesafe temelli yöntemlerden ise UPGMA ve NJ metotları seçilerek fenetik analizleri de yapılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Bitki Örneklerinin Toplanması

Bitki materyalleri 2012 yılından başlayarak 2014 yılı dahil çiçeklenme dönemleri dikkate alınarak Yard. Doç. Dr. Fatih COŞKUN, Yard. Doç. Dr. Mehmet Yavuz PAKSOY, Öğr. Gör. Dr. Emre SEVİNDİK ve Veysel UZUN tarafından toplanmıştır. *L.undulata*, *L.orientalis* ve dış grup olarak kullanılan *Hieraciumumbellatum* ve *Hieracium laevigatum* türleri ise gen bankasından temin edilmiştir. Tablo 3.1’de bitkilerin hangi lokalitelerden toplandıkları, gen bankasından alınan türlerin ise genbank kodları verilmiştir.

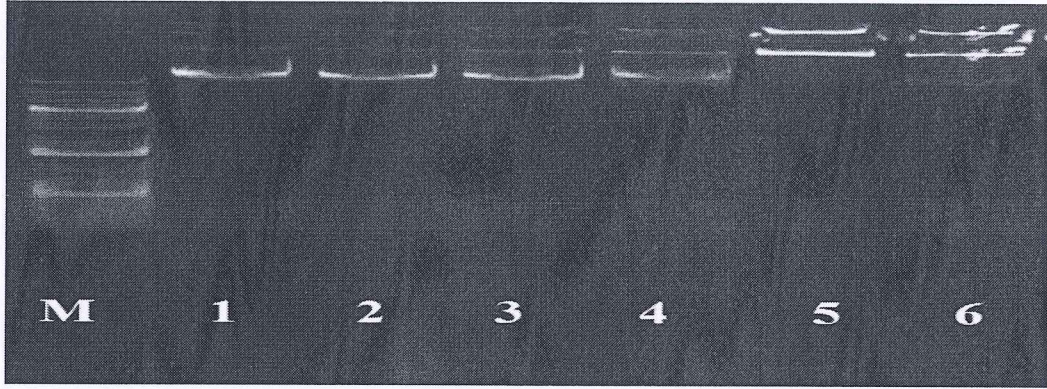
Tablo 3.1 :Bitki örneklerinin toplandığı lokaliteler

No	Takson İsmi	Toplandığı Lokalite/Genbank numarası
1	<i>Lactuca serriola</i>	Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi,Çağış KampüsüÇevresi 18.07.2013 <i>V.Uzun</i>
2	<i>Lactuca sativa</i>	Kültür bitkisi olarak yetiştirilmektedir. <i>V.Uzun</i>
3	<i>Lactuca saligna</i>	Mus: Malazgirt, Laladağ köyü Güneybatısı, step, 18.08.2007, 39° 18' 379" N 42° 25' 858" E, 1969 m <i>M.Y.Paksoy &amp;E.Sevindik</i>
4	<i>Lactuca viminea</i>	Erzincan : Erzincan Üniversitesi Kampüsü, Yalnızbağ Yerleşkesi, Yeni Camii inşaatı çevresi 28.7.2013 <i>V.İlhan</i>
5	<i>Lactuca kemaliya</i>	Erzincan: Kemaliye, Başpınar, Armağan köyü, Munzur dağları, bahcearaları, 1400 m, 21.8.1980 <i>V.İlhan</i>
6	<i>Lactuca scarioloides</i>	Mus: Malazgirt, Karıncalı vadisi, step, 26.10.2006, 39° 21' 456" N 42° 15' 582" E, 1552 m <i>M.Y.Paksoy&amp; E.Sevindik</i>
7	<i>Lactuca undulata</i>	Genbank No : KF485648
8	<i>Lactuca orientalis</i>	Genbank No : KF485659.1
9	<i>Lactuca tuberosa</i>	KF485651.1
10	<i>Hieracium laevigatum</i>	AY879154.1
11	<i>Hieracium umbellatum</i>	HQ131822.1
12	<i>Inula germanica</i>	Bursa: Yenişehir, Yeniköy yakınları, 350 m, 02.08.2013, <i>Paksoy 2090 &amp; Sevindik</i>
13	<i>Inula ensifolia</i>	İstanbul, Çatalca, Subaşı piknik alanı yol kenarı, 20.06.2013, <i>Paksoy 2006 &amp; Sevindik</i>



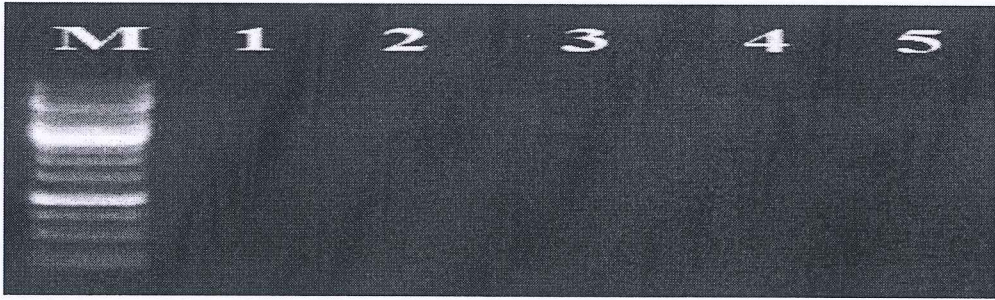
### 3.2 DNA İzolasyonu

Bitki örneklerinden genomik DNA izolasyonu Fenol-Kloroform-İzoamil Alkol metodu ve ticari olarak satın alınan Sigma Kiti ile yapılmıştır. PCR sonuçlarına göre Sigma kiti ile yapılan izolasyonların daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Bundan dolayı taksonların büyük çoğunluğunun DNA'ları Sigma kiti ile izole edilmiştir.



Şekil 3.1 :*Lactuca* örneklerinin gDNA görüntüsü

M : Marker    1 : *Lactuca serriola*    2 : *Lactuca saligna*    3 : *Lactuca kemaliya*  
4 : *Lactuca scarioloides*    5 : *Lactuca sativa*    6 : *Lactuca viminea*



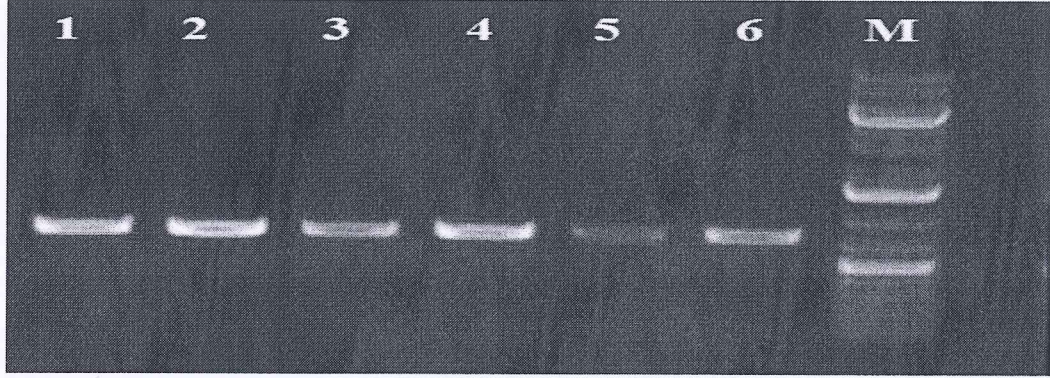
Şekil 3.2 :*Lactuca* örneklerinin gDNA görüntüsü

M : Marker    1 : *Lactuca serriola*    2 : *Lactuca saligna*    3 : *Lactuca kemaliya*  
4 : *Lactuca scarioloides*    5 : *Lactuca viminea*



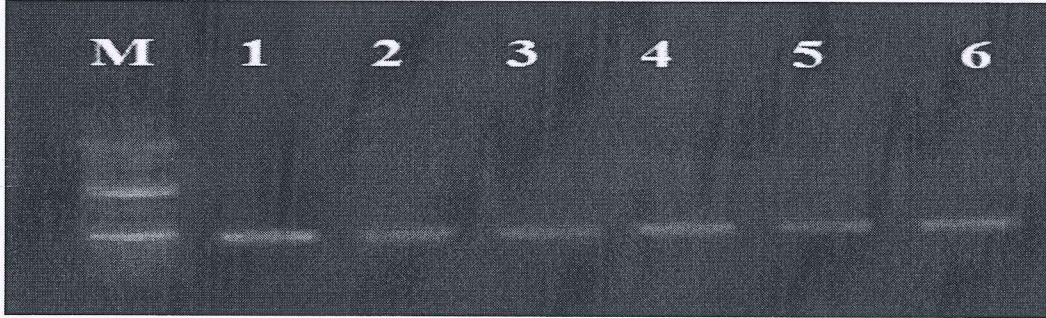
### 3.3 PZR Reaksiyonları

Genomik DNA izolasyonundan sonra ITS ve *trnL-F* bölgeleri PZR amplifikasyonu ile çoğaltılmıştır. Elde edilen bant görüntüleri şekil 3.3 ve 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.3 :Bazı *Lactuca* türlerinin ITS ile yapılan PCR görüntüsü

M : Marker    1 : *L.serriola*    2 : *L.saligna*    3 : *L.sativa*    4 : *L.viminea*  
5 : *L.kemaliya*    6 : *L. scarioloides*



Şekil 3.4 :Bazı *Lactuca* Türlerinin *trnL-F* ile Yapılan PCR Görüntüsü.

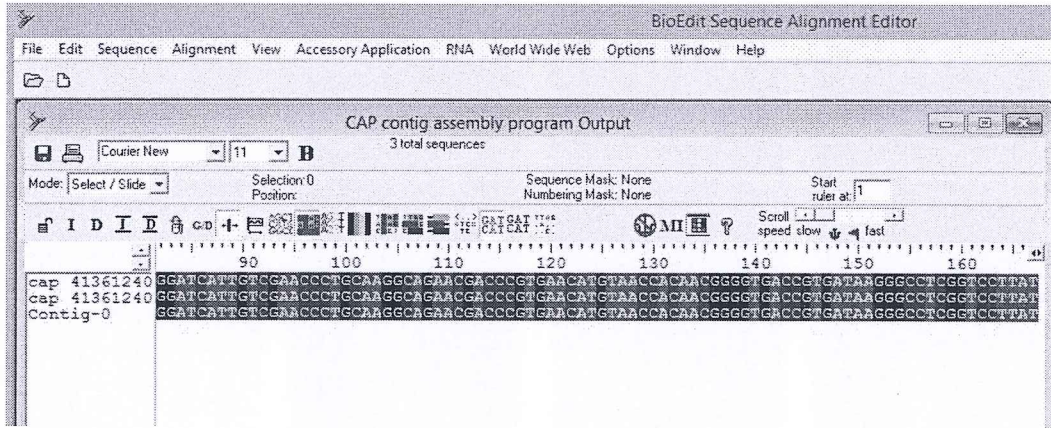
M : Marker    1 : *L.serriola*    2 : *L.saligna*    3 : *L.sativa*    4 : *L.viminea*    5 : *L.kemaliya*  
6 : *L. scarioloides*

### 3.4 Dizileme Reaksiyonları

ITS ve *trnL-F* bölgeleri PCR reaksiyonları ile çoğaltıldıktan sonra saflaştırılma ve dizilenme (Cycle sequencing) reaksiyonları için üniversitemizde otomatik DNA dizileyicisi olmadığından dolayı Ligand firmasından hizmet alımı yapıldı. Gerçekleştirilen dizileme reaksiyonlarının sonuçları *ABI prism* formatındaki dosyalar şeklinde tarafımıza iletildi.

### 3.5 Dizilerin İşlenmesi

*ABI prism* formatındaki dosyalar şeklinde gelen DNA dizilerin işlenmesi için Codoncode Aligner programı ve BioEdit 7.0.4.1 programları kullanıldı. Her bir türe ait olarak gelen ileri (forward) ve geri (reverse) dizilerden kontig oluşturuldu. Dizileme reaksiyonlarını gerçekleştiren cihazın yanlış okumuş olduğu bazı bazlar, kromatogramdaki sinyallerin güçlülüğüne, temizliğine bakılarak Codoncode Aligner ve BioEdit programlarının yardımıyla el ile görsel olarak düzeltildi ve contig dizileri elde edildi.



Şekil 3.5 :Bioedit programından dizi görüntüsü



### 3.6 Dizilerin Hizalanması

Dizilerin hizalanması için ClustalW programı kullanıldı . Bu program Fasta formatında çalıştığından dolayı elde edilen DNA dizileri Microsoft Office Word programı yardımıyla Fasta formatına çevrildi ve hizalamaya hazır hale getirildi. DNA baz sıraları ClustalW programında varsayılan komutlar kullanılarak hizalandı ve türler arasındaki baz farklılıkları tespit edildi.

```
H.laevigatum      TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTCAC
H.umbellatum     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTCAC
L.sativa         TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.saligna       TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.serricola     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.scarioloides  TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.kemal.        TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.vimineae     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTAACTGATTCAC
L.orientalis   TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTAACTGATTCAC
L.tuberosus    TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
L.undulata     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAC
I.ensifolia    TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTCAC
I.germanica    TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTCAC
***** * *****
```

Şekil 3.6 :Dizilerin hizalanması

### 3.7 Filogenetik Analiz

Filogenetik analiz için PAUP 4.0b10 (Swofford, 2001) programı kullanıldı. Bu program Nexus formatında çalışmaktadır. ClustalW programında hizalanmış olan diziler Nexus formatına çevrilerek PAUP 4.0b10 programında filogenetik analize hazır hale getirildi. Çalışmada MAC bilgisayar kullanıldı ve PAUP'un MAC versiyonunda filogenetik analizler yapıldı. MAC bilgisayarda PAUP açıldıktan sonra ekranın üst kısmında oluşan pencerelemlerden, yapılması istenen analizler ve kriterler seçilerek kolaylıkla filogenetik ağaçlar oluşturuldu.

Kriterlerden karakter temelli yöntemlerden olan Parsimoni seçilip Heuristic araştırma yapıldı ve oluşan ağaçlar kaydedildi Oluşan ağaçların ortak uyumluluk (konsensus) ağaçları pencereden gerekli yollar izlenerek oluşturuldu ve kaydedildi Yine Parsimoni kriterinde bootstrap analizi yapıldı ve ağaç kaydedildi Daha sonra mesafe (distance) temelli yöntem kullanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group



Method Using Arithmetic Average) ve NJ (Neighbor Joining) analizleri yapıldı.  
Oluşturulan filogenetik ağaçlar ve yorumlar sonuç bölümünde sunulmuřtur.

## 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Filogenetik analizler son yıllarda çok geniş bir kullanım alanına sahip olmuştur. Verilerin değerlendirilmesi için Parsimoni en sık kullanılan metottur. Olası bütün ağaçları değerlendirmek ve seçim yapmak için her birine farklı bir kriter ya da skor verme esasına dayanır. Maksimum parsimoni en tutumlu olan yani ilişkiyi en gerçekçi yansıtan ağacı belirlemektir.

Bu analizin dışında, genetik uzaklık metodu ise; dizi çiftleri arasındaki farklılık ve uzaklığın derecesine dayanır. Belirlenen uzaklık taksonlar arasında uzaklık matrisi oluşturulmasında kullanılır. Bu algoritmalarda küme temelli yani benzer dizi çiftleri kullanılarak yapılan UPGMA ve NJ ile birçok ağaç topolojisini karşılaştırarak en uygun olanı belirleyen optimalite temelli algoritmalar kullanılır.

Bootstrap analizi ile elde edilen ağaçlarda ise; parsimoni kriterleri kullanılarak istatistiksel olarak en güvenilir dalları bulmak amaçlanır. Yapılan çalışma ile elde edilen dallarda yüzdeler olarak ne oranda desteklendiği analiz edilir. Bootstrap değeri %0-100 arasında değişen değerlerdir. Kress ve arkadaşlarının (2002) belirlediği bootstrap destek kriterlerine göre,  $\geq 85$  güçlü, %70-85 orta, %50-70 zayıf,  $< 50$  çok zayıf olarak tanımlanmışlardır.

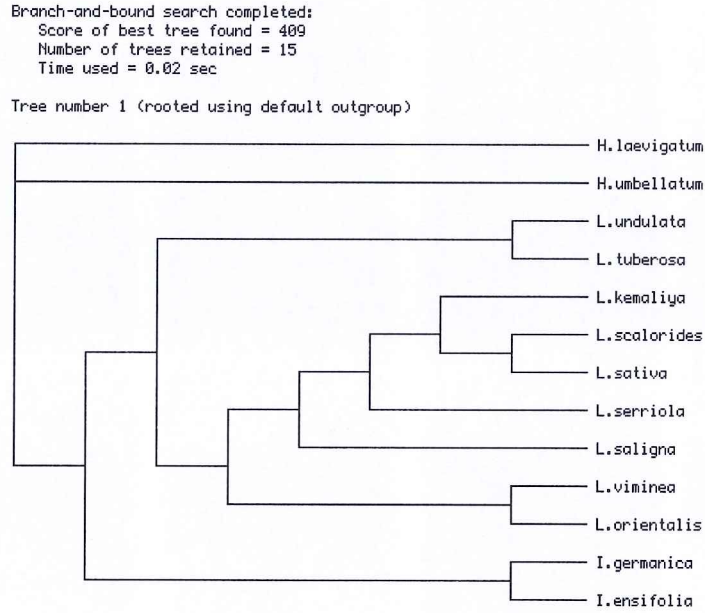
### 4.1 ITS Dizilerine Dayalı Yapılan Filogenetik Analiz

100 ağaç seti seçilerek yapılan analizde; Branch-and-Bound algoritmasıyla parsimoni ağaçları oluşturulmuş ve total 409 ağaç oluşmuştur. Değişmeyen (constant) değer 644, değişken (variable) değer 50, bilgi verici (informative) değer 225, bulunmuştur.

Heuristic Search yapılarak oluşturulan Strict Consensus/sıkı uyumluluk ağacında; yine Maksimum ağaç sayısı 100, tekrar sayısı 100 seçilmiştir.

Bootstrap analizi için aynı kriterlerde seçilen ağaç topolojisinde total, değişmeyen (constant), değişken (variable), bilgi verici (informative) değerleri yine aynı olup en iyi ağaç skoru 372, yeniden düzenlene (rearrangement) değer 20155 'dir.

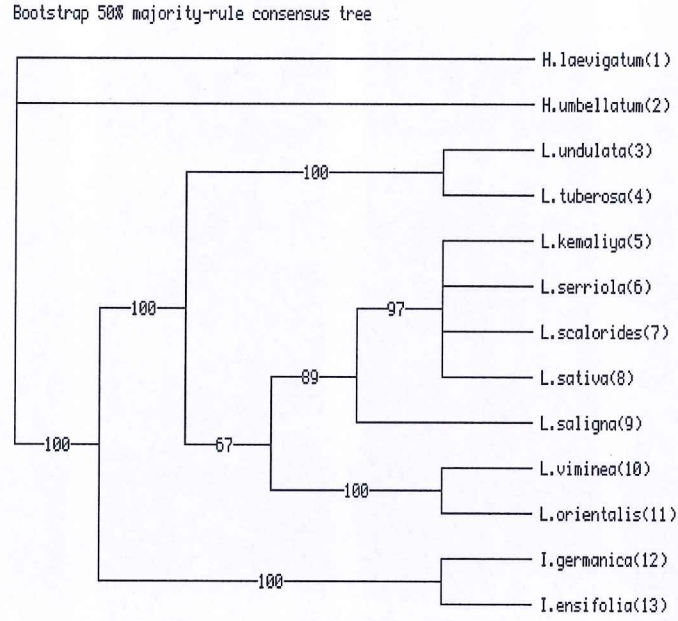
Mesafe temelli yapılan UPGMA ve NJ analizleride Şekil 4.4 ile Şekil 4.5’de verilmiştir. En yakın komşu ağaç topolojilerinin karşılaştırmalı istatistiksel analizi yapıldığında ağaç üzerinde belirtilen birim her taksonun birbirine göre ayrılma önceliğini belirtmektedir.



Şekil 4.1 :ITS verilerine dayalı Branch and Bound ağacı

ITS veri setine dayalı yapılan filogenetik analiz sonucunda Şekil 4.1’deki Branch and Bound ağacına baktığımızda, *L.undulata* ve *L.tuberosa*’nın bir grup olduğu ve bu grubun Bootstrap (Şekil 4.2) ağacında %100’lük güçlü bir destek ile desteklendiği görülmektedir. Maksimum parsimoni kriterine dayalı heuristic search ağacında bu dal aynı çıkmıştır (Şekil 4.3). ITS+trnL-F veri setine dayalı yapılan filogenetik analiz sonucunda oluşturulan branch and bound ve heuristic search ağaçlarında bu dal aynı çıkmıştır. İkinci grup, *L.kemaliya*, *L.scaroloides*, *L.sativa*, *L.serriola*, *L.saligna*, *L.viminea* ve *L.orientalis*’den oluşmaktadır. Dal içinde *L.scaroloides* ve *L.sativa* kardeş grup oluşturmuş olup, heuristic search ağacında bu grubu desteklemiştir (Şekil 4.3). *L.kemaliya* bu gruba akraba bir dal oluşturmuştur. *L.saligna* ve *L. serriola* bu dala akrabaçıkmiş olup, Bootstrap analizi ile bu dal % 97’lik bir değer ile desteklenmiştir (Şekil 4.2). Dal içinde *L.viminea* ve *L.orientalis* bir kardeş grup oluşturmuş olup Bootstrap analizi sonucu oluşturulan ağaç sonunda % 100 desteklenmiştir (Şekil 4.2).



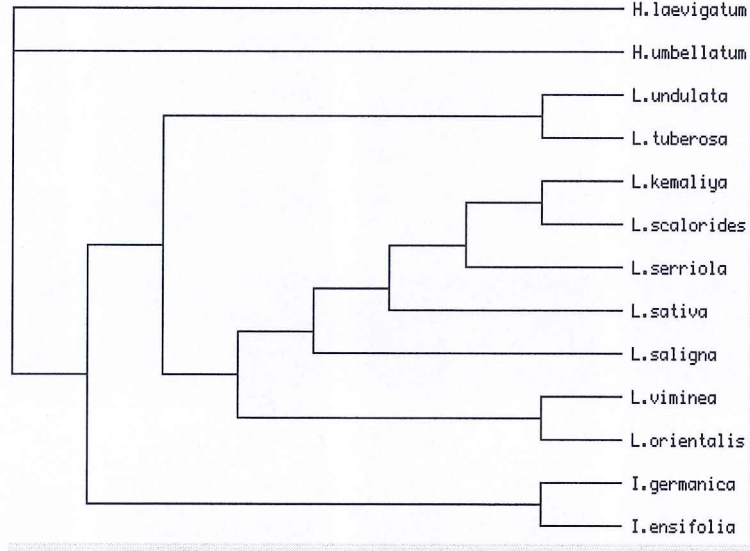


Şekil 4.2 : ITS verilerine dayalı Bootstrap ağacı

Bootstrap analizi elde edilen ağaçların dallarının güvenilirlik derecesini istatistiksel olarak test etmeye yarar. Bootstrap değeri %0 ile %100 arasında değişkenlik gösterir. Kress ve arkadaşlarının (2002) karakterize ettiği bootstrap destek kriterlerine göre,  $\geq$ %85 güçlü, %75-80 arası orta, %50-70 arası zayıf ve  $<$ %50 çok zayıf şeklinde tanımlanmıştır. Eğer, belli bir dal için bootstrap desteği %50'nin altında ise; araştırmacı ağacın bu kısmındaki dallama modelini belirleyemediği sonucuna varacak ve ağaçta bu dalı tek düğümünden çok çatallı (politomi) olarak verecektir. Şekil 4.2'ye baktığımızda, *L. undulata* ve *L. tuberosa* %100'lük bir bootstrap değeri ile desteklenir iken morfolojik olarak akenlerinin 14 mm'den uzun olması, Fillarilerinin 3 seriate'den fazla olması morfolojik olarak bu dalı desteklemektedir. *L. undulata* ve *L. tuberosa* %100'lük bir bootstrap değeri ile, *L. kemaliya*, *L. scarioloides*, *L. serriola*, *L. sativa* %97'lik bir Bootstrap değeri ile, *L. saligna* %89'luk bir Bootstrap değeri ile desteklenmiştir. Bu dal üyelerinin morfolojik özelliklerine baktığımızda çiçek renklerinin sarı olması bu kladı morfolojik olarak desteklemiştir. *L. viminea* ve *L. orientalis* %100'lük bir Bootstrap değeri ile desteklenmiştir. Dış grup olarak seçilen *H. laevigatum* ve *H. umbellatum* 100 % lük bir Bootstrap desteğiyle diğer dış grup olan *Inula* türlerinden ve iç grup olan *Lactuca* taksonlarından ayrılmıştır.

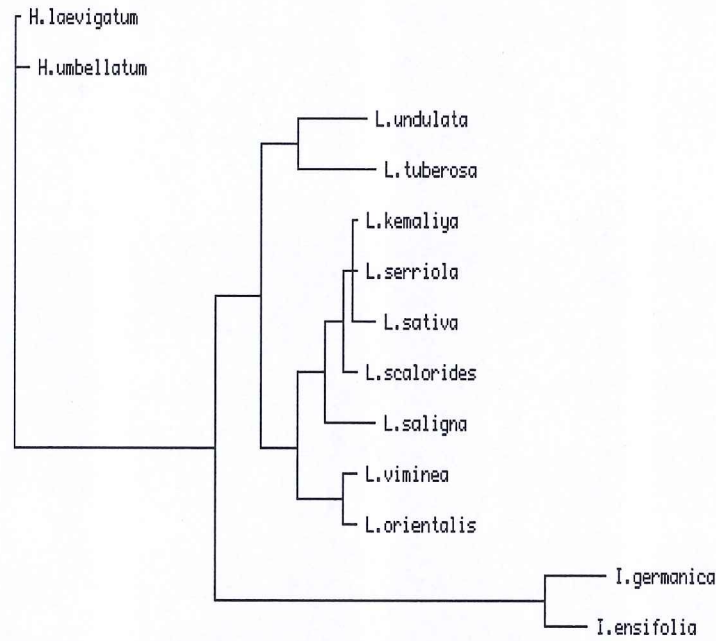
heuristic search completed  
Total number of rearrangements tried = 10044  
Score of best tree(s) found = 409  
Number of trees retained = 15  
Time used = 0.02 sec

Tree number 1 (rooted using default outgroup)



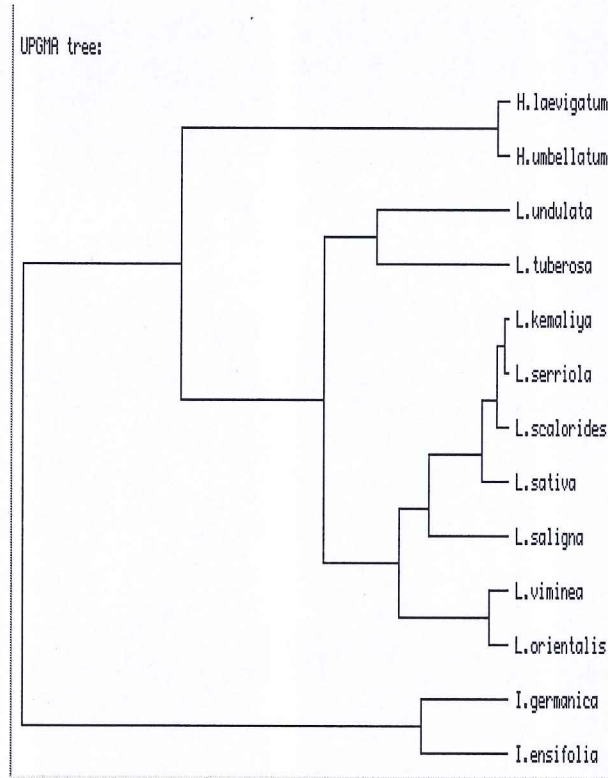
Şekil 4.3 : ITS verilerine dayalı heuristic search ağacı

Neighbor-joining tree:



Şekil 4.4 :ITS verilerine dayalı NJ ağacı

Dizi hizalanması (alignment) temeline dayanarak hesaplanan dizi çiftleri arasındaki farklılıkların miktarına (mesafeye) dayanır. Dizi hizalanması sonucu hesaplanan evrimsel mesafeler, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılabilirler. Matristeki bu çiftli mesafe skorlarına dayanarak tüm taksonlar için bir filogenetik ağaç oluşturulabilir. Bu yöntemde kullanılan algoritmalar, kümelenme temelli veya en iyi durum (optimum durum) temelli olarak iki kola ayrılırlar. Kümelenme temelli algoritmalar, en benzer dizi çiftlerinden başlayan bir mesafe matrisine dayanarak filogenetik ağacı hesap ederler. Bu algoritmalar, aritmetik ortalamayı kullanarak ağırlıklı olmayan çift grup yöntemini (UPGMA ) ve komşu birleştirme ( NJ ) yöntemini içerirler.



Şekil 4.5 :ITS verilerine dayalı UPGMA ağacı



#### 4.2 *trnL-F* Dizilerine Dayalı Yapılan Filogenetik Analiz

100 ağaç seti seçilerek yapılan analizde; Branch-and-Bound algoritmasıyla parsimoni ağaçları oluşturulmuş ve total 77 ağaç oluşmuştur. Değişmeyen (constant) değer 369, bilgi verici (informative) değer 36, bulunmuştur.

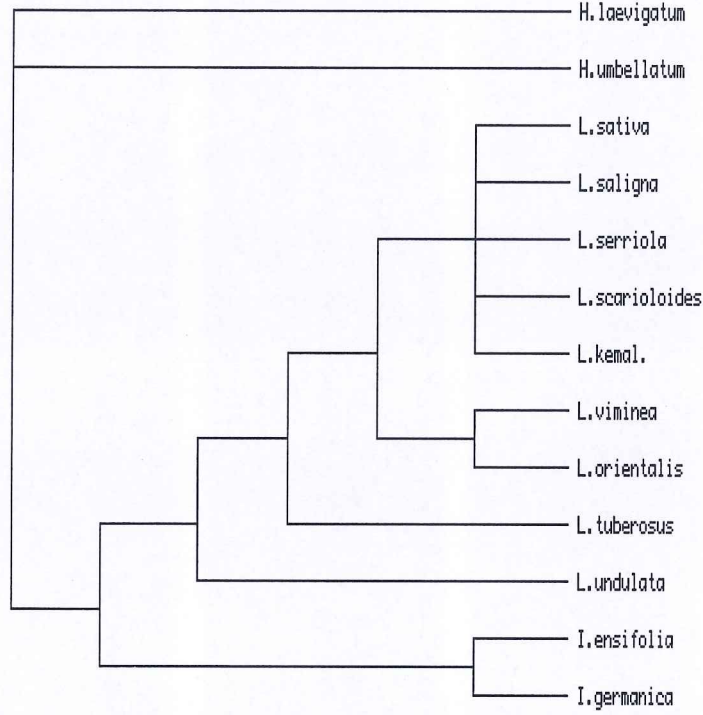
Heuristic Search yapılarak oluşturulan Strict Consensus ağacında; yine Maksimum ağaç sayısı 100, tekrar sayısı 100 seçilmiştir.

Bootstrap analizi için aynı kriterlerde seçilen ağaç topolojisinde total, değişmeyen (constant), değişken (variable), bilgi verici (informative) değerleri yine aynı olup en iyi ağaç skoru 78, yeniden düzenlene (rearrangement) değer 75088 'dir.

Mesafe temelli yapılan UPGMA ve NJ analizleride Şekil 4.9 ile Şekil 4.10'da verilmiştir. En yakın komşu ağaç topolojilerinin karşılaştırmalı istatistiksel analizi yapıldığında ağaç üzerinde belirtilen birim her taksonun birbirine göre ayrılma önceliğini belirtmektedir.

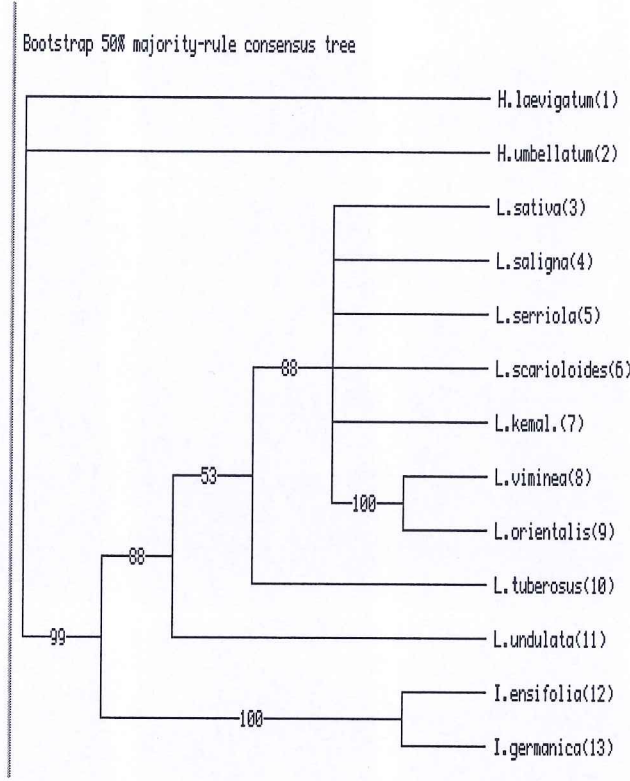
Branch-and-bound search completed:  
Tree buffer overflow; some trees not saved.  
Score of best tree found = 77  
Number of trees retained = 100  
Time used = 1.18 sec

Tree number 1 (rooted using default outgroup)



Şekil 4.6 : *trnL-F* verilerine dayalı Branch and Bound ağacı

*trnL-F* veri setine dayalı yapılan branch and bound ağacına baktığımızda (Şekil 4.6) ağaç 3 klad dan oluşmaktadır. İlk klad, *L. sativa*, *L. saligna*, *L. serriola*, *L. scarioloides*, *L. kemaliya*, *L. viminea* *L. orientalis* bir grup oluşturmuş olup, %88'lik bir Bootstrap değeri ile desteklenmiştir (Şekil 4.7). Dal içinde alt grup bulunmaktadır. *L. viminea* ve *L. tuberosa* bu grup olup Bootstrap analizi ile %100 desteklenmiştir (Şekil 4.7). Dal içinde 2. ve 3. Klad üyeleri *L. tuberosa* ve *L. undulata*'nın %53 ve %88'lik Bootstrap değeri ile birinci klada yakın çıkmıştır. Dış grup olarak seçilen *H. laevigatum* ve *H. umbellatum* herhangi bir destek almamış ve politomi çıkmıştır.



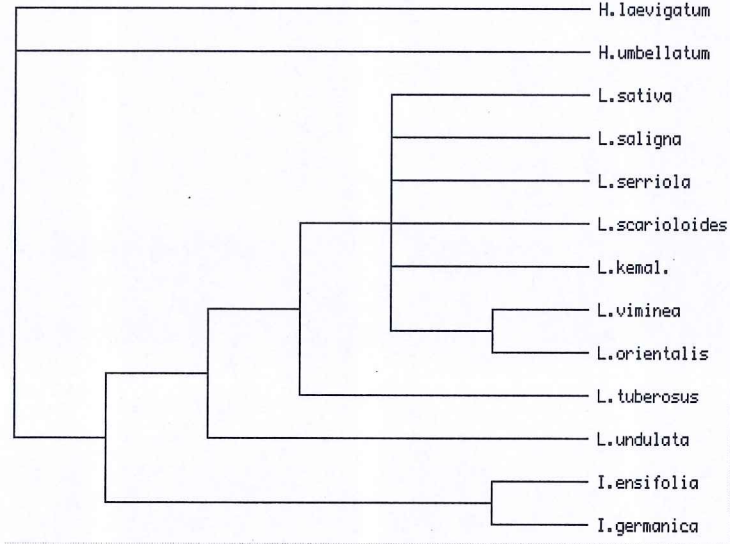
Şekil 4.7 :trnL-F verilerine dayalıBootstrap ağacı

Şekil 4.7'ye baktığımızda, 3 klad oluşmuş olup, ilk klad; *L. sativa*, *L. saligna*, *L. serriola*, *L. scariloides*, *L. kemaliya*, *L. viminea* *L. orientalis*'in oluşturmuş olduğu klad 88'lik bir Bootstrap değeri ile desteklenmiş olup, dal içinde alt grup olan *L. viminea* ve *L. orientalis*'in %100'lük bir değer ile desteklendiği görülmektedir. *L. tuberosa* ve *L. undulata*'nın birinci klada %53 ve %88'lik bir değer ile yakın çıktığı görülmüştür. Dış grup olarak seçilen *I. ensifolia* ve *I. germanica* %100'lük bir destek alırken, *H. laevigatum* ve *H. umbellatum* herhangi bir destek almamış ve politomi çıkmıştır



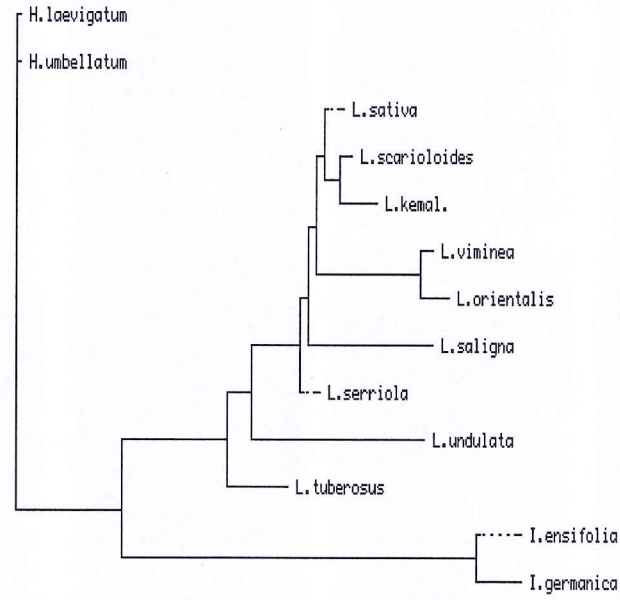
Heuristic search completed  
 Total number of rearrangements tried = 74888  
 Score of best tree(s) found = 77  
 Number of trees retained = 100  
 Note: Effectiveness of search may have been diminished due to tree-buffer overflow.  
 Time used = 2.52 sec

Tree number 1 (rooted using default outgroup)

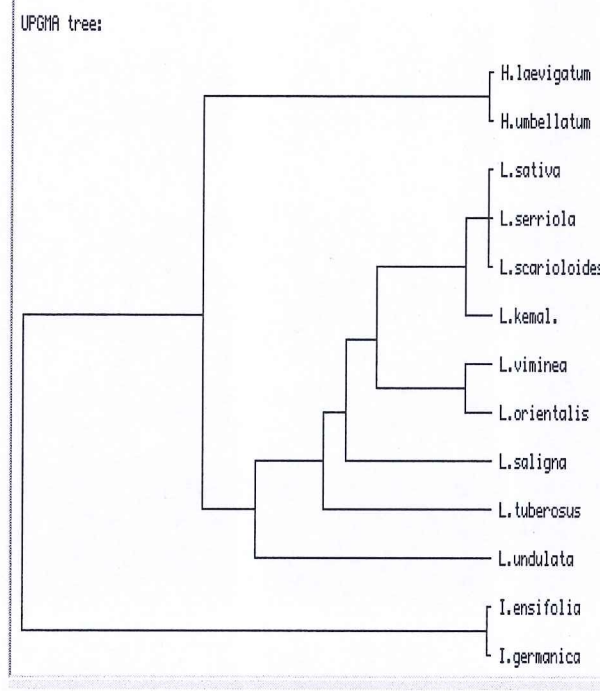


Şekil 4.8 :trnL-F verilerine dayalı heuristic search ağacı

Neighbor-joining tree:



Şekil 4.9 :trnL-F verilerine dayalı NJ ağacı



Şekil 4.10 :*trnL-F* verilerine dayalı UPGMA ağacı.

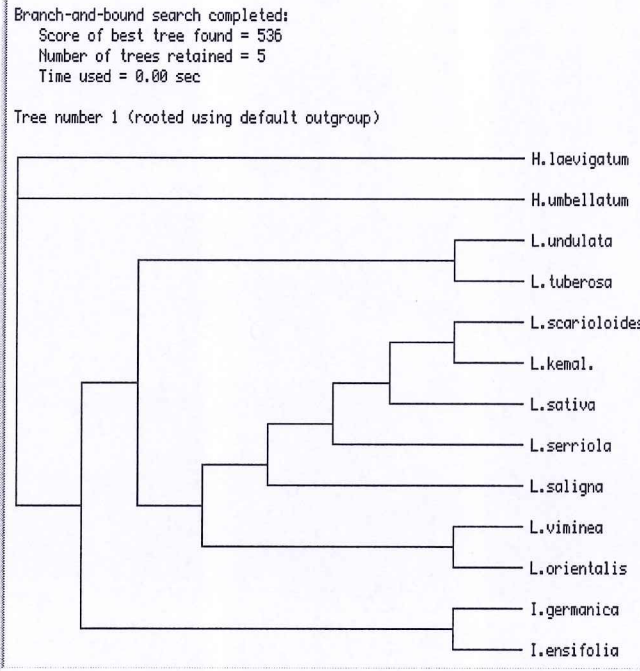
### 4.3 ITS ve *trnL-F* Dizilerine Dayalı Filogenetik Analiz

100 ağaç seti seçilerek yapılan analizde; Branch-and-Bound algoritmasıyla parsimoni ağaçları oluşturulmuş ve total 536 ağaç oluşmuştur. Değişmeyen (constant) değer 945, bilgi verici (informative) değer 284, bulunmuştur.

Heuristic Search yapılarak oluşturulan Strict Consensus ağacında; yine Maksimum ağaç sayısı 100, tekrar sayısı 100 seçilmiştir.

Bootstrap analizi için aynı kriterlerde seçilen ağaç topolojisinde total, değişmeyen (constant), değişken (variable), bilgi verici (informative) değerleri yine aynı olup en iyi ağaç skoru 555, yeniden düzenlene (rearrangement) değer 3354 'dir.

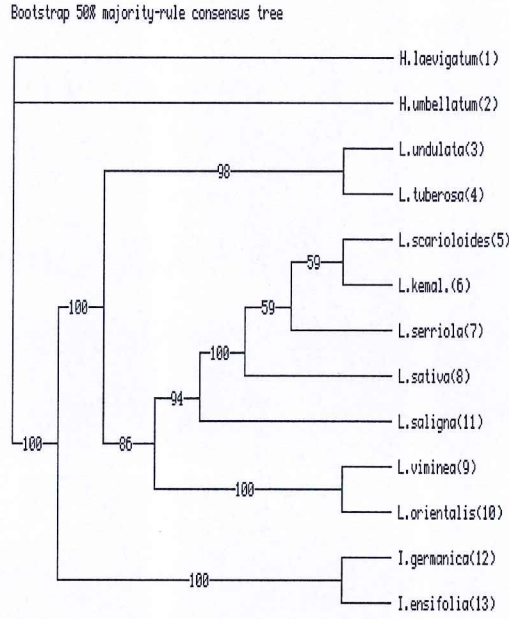
Mesafe temelli yapılan UPGMA ve NJ analizleride Şekil 4.14 ile Şekil 4.15'da verilmiştir. En yakın komşu ağaç topolojilerinin karşılaştırmalı istatistiksel analizi yapıldığında ağaç üzerinde belirtilen birim her taksonun birbirine göre ayrılma önceliğini belirtmektedir.



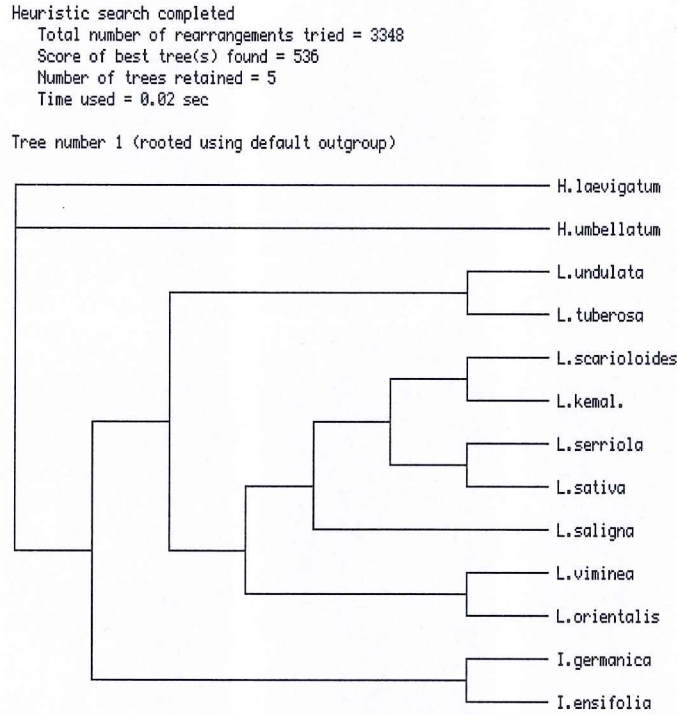
Şekil 4.11 :ITS ve *trnL-F* verilerine dayalı branch-bound ağacı.

ITS+*trnL-F* veri setine dayalı yapılan filogenetik analiz sonucunda Şekil 4.11'deki Branch and Bound ağacına baktığımızda 2 klad bulunmaktadır. İlk klad *L. undulata* ve *L. tuberosa*'dan oluştuğu ve bu grubun Bootstrap (Şekil 4.12) ağacında %98'lik güçlü bir destek ile desteklendiği görülmektedir. Maksimum parsimoni kriterine dayalı heuristic search ağacında bu dal aynı çıkmıştır (Şekil 4.13). ITS veri setine dayalı yapılan filogenetik analiz sonucunda oluşturulan branch and bound ve heuristic search ağaçlarında bu dal aynı çıkmıştır (Şekil 4.1). İkinci grup, *L. kemaliya*, *L. scaroloides*, *L. sativa*, *L. serriola*, *L. saligna*, *L. viminea* ve *L. orientalis*'den oluşmaktadır. Dal içinde *L. scaroloides* ve *L. kemaliya* kardeş grup oluşturmuş olup, heuristic search ağacında bu grubu desteklemiştir (Şekil 4.12). *L. sativa*, *L. saligna* ve *L. serriola* bu dala akraba çıkmış olup, Bootstrap analizi ile bu dal % 94'lük bir değer ile desteklenmiştir (Şekil 4.2). Dal içinde *L. viminea* ve *L. orientalis* bir kardeş grup oluşturmuş olup Bootstrap analizi sonucu oluşturulan ağaç sonunda % 100 desteklenmiştir (Şekil 4.12). Dış grup olarak seçilen *I. ensifolia* ve *I. germanica* %100'lük bir destek alırken, *H. laevigatum* ve *H. umbellatum* herhangi bir destek almamış ve politomi çıkmıştır. (Şekil 4.12).



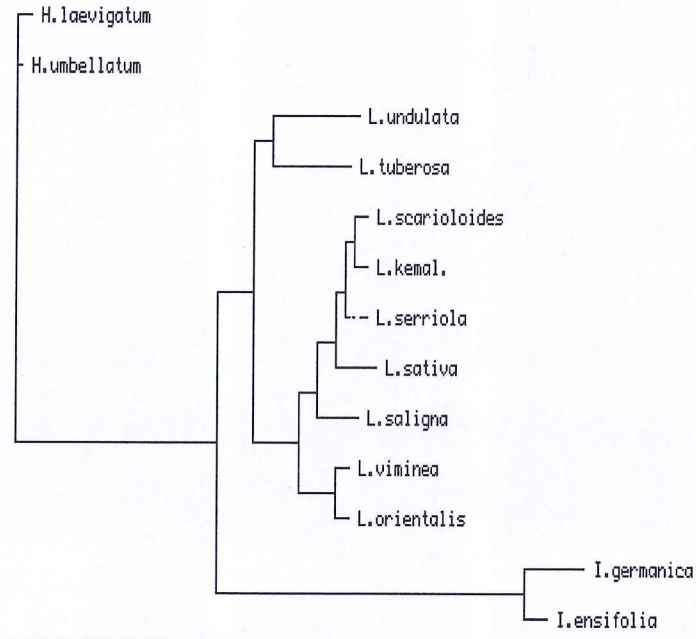


Şekil 4.12 :ITS ve *trnL-F* verilerine dayalı Bootstrap ağacı.



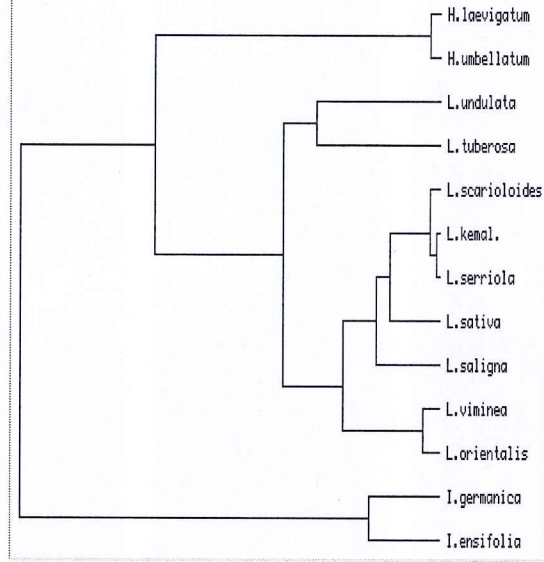
Şekil 4.13 :ITS ve *trnL-F* verilerine dayalı heuristic search ağacı.

Neighbor-joining tree:



Şekil 4.14 :ITS ve *trnL*-F verilerine dayalı NJ ağacı.

UPGMA trees:



Şekil 4.15 :ITS ve *trnL*-F verilerine dayalı UPGMA ağacı

## 5. KAYNAKLAR

Akkuş, S. (2006). DNA parmak izi ve adli biyoloji kongresi, İstanbul.

Amane, M., Lumaret, R., Hany, V., Ouazzani, N., Debain, C., Vivier, G., Deguilloux, M. F. (1999). Chloroplast-DNA Variation in Cultivated and Wild Olive (*Olea Europaea* L.), *Theor Appl Genet*, 99, 133.

Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L. (1999). Olive Genetic Diversity Assessed Using Amplified Fragment Length Polymorphisms, *Theor Appl Genet*, 98, 411.

Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter J. M., Wolciechowski, M. F., Campell, C.S. and Donoghue, M. J. (1995). The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 250-272.

Baldwin, B., G. and Markos, S. (1999). Phylogenetic utility congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia*, *Mol. Phyl. Evol.*, 10, 449.

Baldwin, B.G. (1992). Phylogenetic Utility of the Internal Transcribed Spacers of Nuclear Ribosomal DNA in Plants: An Example from the Compositae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1/3.

Çebi Kılıçoğlu, M. ve Özkoç, İ. (2008). Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 23,(1): 65-72.

Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K. (1982). *Limonium* Miller In: Davis, P. H., Mill, R. R. & Tan, K. (eds.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Supplement) Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, Vol. 7, pp. 465-477.

Doebley, J, Blanton, W.R., A. (1987). Restriction Site Variation in the *Zea* Chloroplast Genome, *Genetics*, 117, 139.



Doğan, C., Sorkun, K. (1999). Pollen analysis of honeys from Central, Eastern and Southeastern Anatolia in Turkey. *Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering Series A*, 28.

Erik, S. ve Tarıkahya, B. (2004). Türkiye Florası Üzerine (About Flora of Turkey), *Kebikeç* 17: 139-163.

Fior S., Karis O.P., Casazza G., Minuto L. and Sala F. (2006). Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae (Caryophyllales) inferred from chloroplast *MatK* and nuclear rDNA ITS sequences. *American Journal of Botany* 93(3): 399-411.

Freeman S. and Herron, J.C. (1999). *Evrimsel Analiz*, Çıplak, B., Basıbüyük. H. H., Karaytuğ, S., and Gündüz, G., Palme Yayıncılık,

Froslev, T.G., Matheny, P.B. and Hibbett, D.S. (2005). Lower Level Relationships in the mushroom genus *Cortinarius* a comparison of Rpb1, Rpb2, and ITS phylogenies, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37, 602.

Gielly, L. and Taberlet, P. (1996). A phylogeny of the European gentians inferred from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 120, 57-75.

Gielly, L. and Taberlet, P. (1994). The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: non-coding versus *rbcL* sequences, *Molecular Biology and Evolution*, 11, 769-777.

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.

Graham, S.W. and Olmstead, R.G. (2000). Systematics utility of 17 chloroplast genes for inferring the phylogeny of the Angiosperms, *American Journal of Botany*, 11, 87.

Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero, S. J. and Owen. J.L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 89, 998-1006.

Heywood, V. H. (1978). *Flowering Plants of the World*. Oxford University Press, Oxford, London.

Kaçar, Y. A., (2001). Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 190 s.

Liu, J.Q., Gao, T.G., Chen, Z. D. and Lu, A. M. (2002). Molecular phylogeny and biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Nannoglottis*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23, 307.

Liu, Q., Ge, S., Tang, H., Zhang, X., Zhu, G. and Lu, B-R. (2005). Phylogenetic relationships in *Elymus* (Poaceae: Triticeae) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences. *New Phytologist* 170: 411-420.

Motomi, T.Y., King, R.M., Watanabe, K., Sanae, J.Y. and Crawford, D.J. (2000). Molecular phylogeny of Eupatorieae (Asteraceae) estimated from cpDNA RFLP and ITS implication for the polyploid origin hypothesis of the tribe, *J. of Plant Research*, 113, 91.

Mummenhoff, K., Franzke, A. and Koch, M. (1997). Molecular phylogenetic of thlaspi Brassicaceae based on chloroplast DNA restriction site variation and sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA, *Cand. J. Botany*, 75, 469.

Özhatay, N. and Kültür, Ş. (2006). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III, *Tr. J. Bot.*, 30:281-316.

Pillay, M., Mazzella, C. (1997). Chloroplast Genome Differences between *Paspalum dilatatum* Poir and the Related Species *P. notatum* Flugge, *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 696.

Pirie, D.M., Vargas, B.M.P., Botermans, M., Bakker, T.F. and Chatrou, W.L. (2007). Ancient Paralogy in the cpDNA *trnL-F* Region in Annonaceae: Implications for Plant Molecular Systematics. *American Journal of Botany* 94(6): 1003–1016.



Remi, A., Wattier, A.L.D., Barbara, A.W. and Maggs, C.A. (2001). cpDNA-RFLP in *Ceramium* (Rhodophyta) Intraspecific Polymorphism and species level phylogeny, *American Journal of Botany*, 88, 1209.

Rosa, R.I., Angiolillo, A., Guerrero, C., Pellegrini, M., Rallo, L., Besnard, G., Berville, A., Martin, A. (2003) A First Linkage Map of Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars Using RAPD, AFLP, RFLP and SSR Markers, *Theor Appl Genet*, 106, 1273-1282.

Saiki R. K., Gelfand D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Hiquchi, R., Horn, G.T., Mullis K.B., and Erlich, H.A. (1998). Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase, *Science*, 239:487-491.

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, V., Bekat, L., Leblebici, E. (1998). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*, E.Ü.F.F. kitaplar serisi no: 116, Bornova-İzmir.

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., Small, R. L.; Cronn, R. C.; Wendell, J. F. (2004). Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants, *Australian Systematic Botany*, 17, 145-170.

Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou and J. Bouvet. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17: 1105-1109.

Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M. (1998). *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders kitapları No.78 Ankara.

Türktaş, M., Aslay, M., Kaya, E. and Ertuğrul F. (2012). Molecular characterization of phylogenetic relationships in *Fritillaria* species inferred from chloroplast *trnL-trnF* sequences. *Turkish Journal of Biology* 36, 552-560.

Walton, M. (1993). Molecular markers: which ones to use *Seed World*, July, p:23-29.



Weiguo, Z. Yile, P. Zhang, S. Miao, X. and Huang, Y. (2005). Phylogeny of the genus *Morus* (Urticales: Moraceae) inferred from ITS and *trnL-F* sequences, *African journal of biotechnology* Vol. 4(6) 563-569.

Welsh, J., McClelland, M. (1990). Fingerprinting Genomes Using PCR With Arbitrary Primers, *Nucleic Acids Research*, Vol 18: 7213-7218.

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and Taylor, J. (1990). Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications.*, (Eds.): M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White. Academic Press, San Diego, California, USA. 315-322.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. (1990). DNA Polymorphism Amplified By Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers, *Nucleic Acids Research*, Vol 18, 6531-6535.

Yang Y.J., and Pak H.J. (2006). Phylogeny of Korean *Rubus* (Rosaceae) Based on ITS(nrDNA) and *trnL/F* Intergenic Region (cpDNA). *Journal of Plant Biology*, February, 49(1):44-54.

Yıldırım, A., Kandemir, N. (2001). *Genetik Markörler ve Analiz Metodları*, Konya. Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları, Bölüm 23, 112-159.

Zhang, D. and Sang, T. (1999). Physical mapping of ribosomal RNA genes in *Peonies* (Paeonia, Paeoniaceae) by fluorescent in situ hybridization: Implications for Phylogeny and Concerted Evolution, *American Journal of Botany*, 86, 735

# **EKLER**

## 6. EKLER

### EK.AITS DİZİLERİ

>*L.scalorides*

AGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAACCCTGCAAGGCAGAACGACCCGTGAACAT  
GTAACCACAACGGGGTGACCGGGATAAGGGCCTCGGTCCTTATCCCCTAACCCCTCCCGA  
CGTGAGTTCGTGGTGTCTTTTTGGGGCATCATGGATTCCGTTGGACCATAACAAAACCC  
CGGCACGGTATGTGCCAAGGAAAACAAAAATGAGAAGGACACTACCTGTTTCGCCCGT  
TTGCGGTGTGCGTACAGGTCGTGGCCTCCTTGAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGAT  
ATCTCGGCTCACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCA  
GAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCCGGCTGAGG  
GCACGCCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCTCCCCACCATACTCCCAACGGGTTG  
GCATGGTGTGGGGGCGGATAATGGCCTCCCGTGCTTGTGTTTCGGTTGGCCTAAATAAG  
AGTTCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCTCGTCTTTTGTGCG  
TGTCGTGAGCTGTAAGGGTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGTCTTCGGATGATG  
CTTCGACCGCGACCCCGTC

>*L.kemaliya*

GATGCGGAAGGATCATTGTCGAACCCTGCAAGGCAGAACGACCCGTGAACATGTAACCA  
CAACGGGGTGACCGTGATAAGGGCCTCGGTCCTTATCCCCTAACCCCTCCCGACGTGAGT  
TCGTGGTGTCTTTTTGGGGCATCATGGATTCCGTTGGACCATAACAAAACCCGGCACG  
GTATGTGCCAAGGAAAACAAAAATGAGAAGGACACTACCTGTTTCGCCCGTTTTCGGT  
GTGCGTACAGGTCGTGGCCTCCTTGAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCG  
CTCACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCC  
GTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCCGGCTGAGGGCACGC  
CTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCTCCCCACCATACTCCCAACGGGTTGGCATGG  
TGTTGGGGGCGGATAATGGCCTCCCGTGCTTGTGTTTCGGTTGGCCTAAATAAGAGTTCC  
CTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCTCGTCTTTTGTGCGTGTGCGT  
GAGCTGTAAGGGTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGTCTTCGGATGATGCTTCGA  
CCGCGACCCC

>*L.sativa*

TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAACCCTGCAAGGCAGAACGACCCG  
TGAACATGTAACCACAACGGGGTGACCGTGATAAGGGCCTCGGTCCTTAGCCCTAAC  
CTTCCCGACGTGAGTTCGTGGTGTCTTTTTGGGGCATCATGGATTCCGTTGGACCATAAC  
AAAACCCCGGCACGCTATGTGCCAAGGAAAACAAAAATGAGAAGGACACTACAGTTTC  
GCCCCGTTTTCGGTGTGCGTACAGGTCGTGGCCTCCTTGAATCACAAACGACTCTCGGC  
AACGGATATTTTCGGCTCACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTG  
AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCCG  
GCTGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCTCGCTCCCCACCATACTCCCTAC  
GGTTGGCATGGTGTGGGGGCGGATAATGGCCTCCCGTGCTTGTGTTTCGGTTGGCCTAAA  
TAAGAGTTCCTTCGGCGGACGCACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCTCGTCTTTTGT  
GCGTGTGCGTGTGAGCTGTAAGGGTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGTCTTCGGATG  
ATGCTTCGACCGCGACCCAGGTCAGCGGGGACTACCCGCTGAGTTTAA



>*L.serriola*

TCGAACCCTG CAAGGCAGAA CGACCCGTGA ACATGTAACC ACAACGGGGT GACCGTGATA  
AGGGCCTCGG TCCTTATCCC CTAACCCTTC CCGACGTGAG TTCGTGGTGT  
CTTTTTGGGGCATCATGGA TTCCGTTGGA CCATAACAAA ACCCCGGCAC GGTATGTGCC  
AAGGAAAACA  
AAAATGAGAA GGACACTACC TGTTTCGCCC CGTTTTCGGT GTGCGTACAG GTCGTGGCCT  
CCTTGGAATC ACAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG CTCACGCATC GATGAAGAAC  
GTAGCAAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTTTTGAA  
CGCAAGTTGC GCCCGAAGCC ATCCGGCTGA GGGCACGCCT GCCTGGGCGT CACGCATCGC  
GTCGCTCCCC ACCATACCTC CCCAACGGGT TGGCATGGTG TTGGGGGCGG ATAATGGCCT  
CCCCTGCTTG TGTTTCGGTT GGCCTAAATA AGAGTTCCT TCGGCGGACA CACGACTAGT  
GGTGGTTGAA TAGACCTCG TCTTTTGTG CGTGTCGTGA GCTGTAAGGG TAGCCCTCAT  
CAAAGACCCC ATTGTATCGT CTTCGGATGA TGCTTCGAC

>*L.saligna*

TCGAACCCTG CAAGGCAGAA CGACCCGTGA ACATGTAACC ACAACGGGGT GACTGTGATA  
TGGGCCTCGG TCCTTATCTC CTAACCCTTC CTGACGTGAA TCCGTGGTGT CTCTTTTGGG  
GCATCAGGGA TTCTGTGCGG CCATAACAAA ACCCCGGCAC GGCATGTGCC AAGGAAAAC  
AAAATGAGAA GGACACTTCC TGTTTGGCCC CGTTCGCGGT GTGCGTGCAG GTCGTGGCCT  
CCTTGGAATC ACAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG CTCACGCATC GATGAAGAAC  
GTAGCAAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTTTTGAA  
CGCAAGTTGC GCCCGAAGCC ATCCGGCTGA GGGCACGCCT GCCTGGGCGT CACGCATCGC  
GTCGCTCCCC ACCATACCTC CCCAACGGGT TGGCATGGTG TTGGGGGCGG ATAATGGCCT  
CCCCTGCTTG TGCTTCGGTT GGCCTAAATA AGAGTTCCT TTGGCGGACA CACGACTAGT  
GGTGGTTGAA TAGACCTCG TCTTTTGTG TGTGTCGTGA GCTGTAAGGG AAACCCTCAT  
CAAAGACCCC ACTGTATCGT CTTCGGATGA TG

>*L.undulata*

TCGAACCCTG CAAGGCAGAA CGACCTGTGA ACATGTAACC ACAACGGGGC GAAAGGGAAA  
TGGGCCTTGG TCCTGATCCC CCAACCTCTT CTGACGTGTA TTTGTGGTGC CTCTTTTGG  
GCATCATGCA TCCCGTCAGT CCATAACAAA CCCCGGCACG GCATGTGCCA AGGAAAACAA  
AAAATGAGAA GGACACGTAC TGTACTGCC CGTTCGCGGT GTGCGTGCAG TTCGTGGCCT  
CCTTGGAATC ACAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG CTCACGCATC GATGAAGAAC  
GTAGCAAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTTTTGAA  
CGCAAGTTGC GCCCGAAGCC ATCCGGTTGA GGGCACGCCT GCCTGGGCGT CACGCATCGC  
GTCGCTCCCC ACCATGCTTC CCCAACGGGT TGTGATGGTG TTAGGGGCGG ATAGTGGCCT  
CCCCTTCTT TGTTTCGGTT GGCTAAATA GGAGTTCCT TCAGCGGACA CACGACTAGT  
GGTGGTTGAA AAGACCTTC TCTTGGGTTG TGTGTCGTGA GCTGTGAGGG AAGCCCTCAT  
CAATGACCCC TTTGTATCGT CTTTGGACGG TGCTTCGAC

>*L.vimineae*

TCGAACCCTG CAAGGCAGAA CGACCCGTGA ACATGTAACC ACAACGGGGT GACAGGGATA  
AGGGCCTCGG CCTTGATCCC CTAACCCTTC CCGACCTAAT TCATGGCGTC TTTTTTGGG  
GCATCATGGA TTTCGTTGGA CCATAACAAA ACCCCGGCAC GGAATGTGCC AAGGAAAACA  
AAAATGAGAA GGACGCGTCC TGTATCGCCC CGTTCGCGGT GTGCGTGCAG GTCTTGTCTT  
CCTTGGAATC ACAAACGACT CTCGGCAACG GATATCTCGG CTCACGCATC GATGAAGAAC  
GTAGCAAAAT GCGATACTTG GTGTGAATTG CAGAATCCCG TGAACCATCG AGTTTTGAA  
CGCAAGTTGC GCCCGAAGCC ATCCGGCTGA GGGCACGCCT GCCTGGGCGT CACGCATCGC  
GTCGCTCCCC ACCATACCTC CCCGAAGGGT TGGCGTGGTG TTGGGGGCGG ATAATGGCCT  
CCCCTGCTTG TGTTTCGGTT GGCCTAAATA GGAGTTCCT TCTGCGGACA CACGACTAGT  
GGTGGTTGAA TAGACCTCG TCCTGTGTTG TGTGTCGCGA GCTGTGAGGG AAGCCCTCAT  
CAAAGACCCC ATTGTATTGT CTTCGGACGA TGCTTCGAC



>*L.orientalis*

TCGAACCCTG CAAGGACAGA ACGACCCGTG AACATGTAAC CACAACGGGG TGACAGGGAT  
AAGGGCCTCG GCCTTGATCC CCTAACCCCT CCCGACCTAA TTCATGGCGT CTTTTTTGG  
GGCATCATGG ATTCGTTGG ACCATAACAA AACCCCGGCA CGGAATGTGC CAAGGAAAAC  
AAAAATGAGA AGGACGCGTC CTGTATCGCC CCGTTCGCGG TGTGCGTGCT GGTCTGTCC  
TCCTTGGAAT CACAAACGAC TCTCGGCAAC GGATATCTCG GTCACGCAT CGATGAAGAA  
CGTAGCAAAA TGCGATACTT GGTGTGAATT GCAGAATCCC GTGAACCATC GAGTTTTGA  
ACGCAAGTTG CGCCGAAGC CATCCGGCTG AGGGCACGCC TGCCTGGGCG TCACGCATCG  
CGTCGCTCCC CACCATACT CCCCGAAAGG TTGGCGTGGT GTTGGGGGCG GATAATGGCC  
TCCCGTGCTT GTGTTTCGGT TGGCCTAAAT AGGAGTTCCC TTCGGCGGAC ACACGACTAG  
TGGTGGTTGA ATAGACCCTC GTCTGTGTGTT GTGTGTCGCG AGCTGTGAGG GAAGCCCTCA  
TCAAAGACCC CATCGTATTG TCTTCGGACG ATGCTTCGAC

>*L.tuberosa*

TCGAACCCTG CAAGGCAGAA CGACCTGTGA ACATGTAACC ACAACCGGGT GACAGGGAAA  
TGGGCCTTGG TCCTGACCTT GGAACCTCTC CTGGCGTGCA TTGTGGTGC CTCTTTTGG  
GCATCATGGA TCCCGTCGGA CCATAACCAA CCCCGGCACG GCATGTGCCA AGGAAAACAT  
AAATGAGAAG GGCACGTCTT GTATTGCCCC GTTCGCGGTG TGCGTACGGT TCGTGGCCTC  
CTTGTAATCA CAAACGACTC TCGGCAACGG ATATCTCGGC TCACGCATCG ATGAAGAAGC  
TAGCAAAATG CGATACTTGG TGTGAATTGC AGAATCCCGT GAACCATCGA GTTTTTGAAC  
GCAAGTTGCG CCCGAAGCCA TCCGTTGAG GGCACGCTG CCTGGGCGTC ACGCATCGCG  
TCGCTCCCAA CCATACTTC CCAACAGGT GTGATGTTGT TAGGGGCGGA TAATGGCCTC  
CCGTGCTTGT GTTTCGGTTG GCCTAAATAG GAGTTCCTT CCGCGGACAC ACACTAGTG  
GTGGTTGAAC AGACCCTCGT CCTGTGTTGT GTGTCGTGAG CCGTAAGGGA AACCTCATC  
AACGACCCCA TTGCATTGTC TTCGGACGGT GCTTCGAC

>*H.laevigatum*

GGTCCGGTGA AGTGTAGGA TCGCGGCGAC GTGGGCGGTT CGCCGCCGGC GACGTCGCGA  
GAATTCCACT GAACCTTATC ATTTAGAGGA AGGAGAAGTC GTAACAAGGT TTCCGTAGGT  
GAACCTGCGG AAGGATCATT GTCGAACCCT GCAAAGCAGA ACGACCCGTG AACTTGATCC  
AACAAACGGG AGACGGGGAG ACTGACCTTG GTCGATCC CCGCACCCCT CCGGATTTC  
GTTTCATGATG CCCCATTCGG GTCGTCATGG ATGTCATGCC GGAAACATAA CAACCCCGG  
CACGGAATGT GCCAAGGAAA ACAACATATG AGAAGGATGC ATCCTGTTTT GTCCGTTTCG  
CGGTGTGCAT ACAGGATGCG GCCTCCTTGA AATCACAAAC GACTCTCGGC AACGGATATC  
TCGGCTCACG CATCGATGAA GAACGTAGCA AAATGCGATA CTTGGTGTGA ATTGCAGAAT  
CCCGTGAACC ATCGAGTTTT TGAACGCAAG TTGCGCCCGA AGCCATCCGG CCGAGGGCAC  
GCTGCTGG GCGTCACGCA TCGCGTCGCC CCCACCAAAC ATCCCTTGG GGATACATGG  
CATCGGGGCG GAGATTGGCC TCCCATTCTT TTGGTGTGGT TGGCCTAAAC TGGAGTCCC  
TTCGGTGGAC GCACGACTAG TGGTGGTTGA AAAGACCCTC GTCCTGTGTC GTGCGTCTTA  
AGCTGTGAGG GATGTGCTCG ATAAAGACCC CAATGTGTCG TCCTGCGACG ATGCTTCGAC  
CGCGACCCCA GGCAGGCGG GACTACCCGC TGAGTTAAG CATATCAATA AGCGGAGGAA  
AAGAAACTTA CAAGGATTCC CTTAGTAACG GCGAGCGAAC CGGGATCAGC CCAGCTTGAA  
ATCGGGCG

>*H.umbellatum*

TTTCCGTAGG TGAACCTGCG GAAGGATCAT TGTCGAACCC TGCAAAGCAG AACGACCCGT  
GAACTGTAC CAACAACCTGG GAGACGGGGA GACTGACCTT GGTCTCGAYC CCCGCCACCC  
TCCCGGATTT CGTTCATGAT GCCCATTCG GGTCGTCGTG GATGTCATGC CGGAAACATA  
ACAACCCCGG GCACGGAATG TGCCAAGGAA AACAACATAT TAGAAGGATG CATCCTGCTY  
TGTCCCGTTC GCGGTGTGCA TACAGGATGC GGCCTCCTG AAATCACAAA CACTCTCGG  
CAACGGATAT CTCGGCTCAC GCATCGATGA AGAACGTAGC AAAATGCGAT ACTTGGTGTG  
AATTGCAGAA TCCCGTGAAC CATCGAGTTT TTGAACGCAA GTTGCGCCYG AAGCCATCCG  
GCCGAGGGCA CGCCTGCCTG GCGGTCACGC ATCGCGTCGC CCCACCAA CATCCCTTG  
GGGATACATG GCATCGGGGCG GAGATTGGC CTCCATTCT TTTGGTGTGG TTGGCCTAAA



CYGGAGTCC CTTCGGTGGG CGCACGACTA GTGGTGGTTG AAAAGACCCT CGTCCTGTGT  
CGTGCCTCTT AAGCTGTRAG GGAWGTGCTC GATAAAGACC CCAATGTGTC GTCCTGCGAC  
GATGCTTCGA CCGCGACCCC AGGTCAGGCG GGACTACCCG CTGAGTTTAA G

>I.germanica

TTAAAAAAGCGTAGGTTCTGTGATCTGCGGAGATCATTGTGCGAAGCCTACAAGCAGAACGACCCG  
TGACGTGTATCACCATCCGAGCATCGTAGGGATCGGGCTTTTGCTCATGACCTATTGGCGCCCCGTC  
GATTTGCATCCATGGTCGCCCTTCGAGCCTCCTTGATGTCAAAAAGGCGTTAACCAACCCCGGCA  
CGGCATGTGCCAAGGAAAAATAACTATAAGAGGGCCTCGTTCATGTTGCCCGTTTCGCGGTGTGT  
GCATGTGACGCGGCTTCTTTGAAAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCACGCATC  
GATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTT  
TGAACGCAAGTTGCGCCGAAGCCACTCGGTCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCAGCATCGCGTC  
GCTCCTCACCGTCCCTTAAAGGGGCGTGCAGATAGGAGCGGATACTGGTCTCCCGTCCCGAT  
GGTGCGGTTGGCAAAAATAGGAGTCTCCTTTGATGGATACACGGCAAGTGGTGGTTGACAAAACCT  
TAGTCTCGTGTGTGTGTCAGACTTGTAAAGGTGATGACCTCGTAAAGTACCCTAACGCGTCGTCTA  
TGACGAAGCTCGACCGCACCCAGGTCGGCGTTACTGTTGGTT

>I.ensifolia

TCGTAACAAGGTCGAGGTGACTGCGGGAAGGATCATTGTGCGAAGCCTACAAGCAGAACGACCCGTG  
AACGTGTATCAACATCCGAGCATCGTAGGGATCGGGCTTTTGCTCATGACCTATTGGCGCCCCGTCG  
ATTTGCATCCATGGTCGCCCTTCGAGCCTCCTTGATGTCAAAAAGGCGTTAACCAACCCCGGCAC  
GGCATGTGCCAAGGAAAAATAACTATAAGAGGGCCTCGTTCATGTTGCCCGTTTCGCGGTGTGTG  
CATGTGACGCGGCTTCTTTGAAAATCACAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCACGCATCG  
ATGAAGAACGTAGCAAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTT  
GAACGCAAGTTGCGCCGAAGCCACTCGGCGGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTC  
GCTCCTCACCGTCCCTTAAAGGGGCGTGCAGATAGGAGCGGATACTGGTCTCCCGTCCCGAT  
GGTGCGGCTGGCAAAAATAGGAGTCTCCTTTGATGGATACACGGCAAGTGGTGGTTGACAAAACCT  
TAGTCTCGTGTGTGTGTCAGACTTGTAAAGCGAAGACCTCGTAAAGCACCCCTAACGCGTCGTCTA  
TGACGAAGCTTCGACCGCGACCCCAAGTCCAGGCGG

## EK. B trnL-F DİZİLERİ

>L.sativa

CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACTCCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATACAATGAG  
CGTAAAATCACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATT  
TGACTGATTACGATCGATATTTTTATTACTACTGAACTTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATA  
GGCCCGGGATGAGGCTTTGTAATACCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATGAAA  
ATGAGTATGAGACATGAGGAATAGT

>L.scarioloides

CCCTCTATCCCCAAAAGACCATTTGGCTCCCTAATTCTTTATCGTATCCTTTTTTTTTCTTTATCCTT  
TTTTCGTTAGCGGTTCAAACTCCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATACAATGAGCGTAAAATC  
ACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATT  
CACGATCGATATTTTTATTACTACTGAACTTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATAGGCCCGGG  
ATGAGGCTTTGTAATACCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATGAAAATGAGTAT  
GAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAG



>L.kemaliya

TCCCTCTATCCCCAAAAGACCATTGGCTCCCTAATTCTTTATCGTATCCTTTTTTTTCTTTATCCT  
TTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCATTATACAATGAGCGTAAAT  
CACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGAT  
TCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATAGGCCCGGG  
ATGAGGCTTTGTAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAAAATGAGTAT  
GAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTGT

>L.serriola

CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATACAATGAG  
CGTAAATCACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATT  
TGACTGATTCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATA  
GGCCCGGATGAGGCTTTGTAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAAA  
ATGAGTATGAGACATGAGGAATAGT

>L.undulata

TCTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTAGTCTTTATACAATGA  
GCGGAAAATCACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCA  
TTGACTGATTCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTGACAAATTA  
TAGGCCCGAGATGAGGCTTTGTAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCGAGTTCTCTAGTAAATGA  
AAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGAAT

>L.tuberosa

TCTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCAGTCACTACTCTTTAT  
ACAATGAGCGGAAAATCACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGA  
GCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTCAAGATCGATATTTTTATTCACTGAAACTTACA  
AAGTTGTTCTTTTGACAAATTATAGGCCCGGATGAGGCTTTGCAATACCCTTTCAATTG  
ACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTT

>L.saligna

TCGTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTAGACAATGAG  
CGTAAATCACATGTGATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATT  
TGACTGATTCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATA  
GGCCCGGATGAGGCTTTGTAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAAA  
ATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTC  
GTGTCACCAAGTTC

>L.vimineae

TCTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATACAATGA  
GCGTAAATCACATGTTATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCAT  
TAACTGATTCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAAATTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTAT  
AGGCCCGGATGAGGCTTTGTAATACCCTTTAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAA  
AATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTT

>L.orientalis

TTTTTCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATACAATGAGC  
GTAATCACATGTTATATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTT  
AACTGATTCACGATCGATATTTTTATTCACTGAAAATTACAAAGTTGTTCTTTTAACAAATTATAG  
GCCCGGATGAGGCAATACCCTTTAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAATGAAAATGAG  
TATGAGACATGAGGAATAGTT

>H.laevigatum

CTTTTTATTTATCCTTTTTGGTTAGCGGTTCAAAACTCCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATAG  
TTATAGAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTATTCTCGTATCACATGTGATATATATGATACATGTACA  
AATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTACGTCGCTATTTTTATTCATACTGAA  
ACTTACAAAAGTTGTTCTTTTGACAAAATTATAGGCCCGGGATGAGGCTTTTGAATACCCTTCAATTG  
ACATAGACCCAAAGTTCTCTAGTAAAATGAAAATGAGGATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCT  
CAG TTG

>H.umbellatum

CTTTTTATTTATCCTTTTTGGTTAGCGGTTCAAAACTCCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTATAG  
TTATAGAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTATTCTCGTATCACATGTGATATATATGATACATGTACA  
AATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTACGATCGCTATTTTTATTCATACTGA  
AACTTACAAAAGTTGTTCTTTTGACAAAATTATAGGCCCGGGATGAGGCTTTTGAATACCCTTCAATT  
GACATAGACCCAAAGTTCTCTAGTAAAATGAAAATGAGGATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGC  
TCAG

>I.ensifolia

CTATTTTTCGTATCCTTTTTGGTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGATTCAAAAGTCCTTATCTTTCTCATT  
ACTCCTCTTTATACAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTGTTCTTATCACATGCCACATGTGACATA  
TATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTACGATTATTCA  
TACTGAACTTACAAAAGTTGTTCTTTTGACAAAATTATAGGACCTGGATGAGGCTTTGTAATACCCTT  
TCAATTGACATAGACCCACGTTCTCTAGTAAAATGAAAATGAGGATGAGACATCAGGAATAGTCGG  
GATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTCAC

>I.germanica

TCCCCAAAAGACCATTTGACTCCCTAACTATTTTTCGTATCCTTTTTGGTTTATCCTTTTTTCGTTAGC  
GATTCAAAAGTCCTTATCTTTCTCATTCACTCCTTTTATACAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTGTT  
CTCTTATCACATGCCACATGTGACATATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATC  
CCCATTTGAATGATTACGATTATTTCATACTGAACTTACAAAAGTTGTTCTTTTGACAAAATTATAGG  
ACCTGGATGAGGCTTTGTAATACCCTTCAATTGACATAGACCCACGTTCTCTAGTAAAATGAAAAT  
GAGGATGAGACATCAGGAATAGTCGGGATAGCTCAGT



# EK.C ITS DİZİLERİNİN HİZALANMASI

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

H.laevigatum      GGTCCGGTGAAGTGTTAGGATCGCGGCGACGTGGGCGGTTCCGCCCGGGCGACGTCCGGA
H.umbellatum     -----
L.undulata       -----
L.tuberosa       -----
L.kemaliya       -----
L.serriola       -----
L.scalorides     -----
L.sativa         -----
L.saligna        -----
L.vimineae       -----
L.orientalis     -----
I.germanica      -----
I.ensifolia     -----
    
```

```

H.laevigatum      GAATTCCTACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCTAACAAGTTTCCGTAGGT
H.umbellatum     -----TTTCCGTAGGT
L.undulata       -----
L.tuberosa       -----
L.kemaliya       -----
L.serriola       -----
L.scalorides     -----AGGT
L.sativa         -----TTTCCGTAGGT
L.saligna        -----
L.vimineae       -----
L.orientalis     -----
I.germanica      -----TAAAAAAGCGTAGGTTT
I.ensifolia     -----TCGTAAACAAGGTCGAGGTG
    
```

```

H.laevigatum      GAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCAACCTGCAAAG-CAGAACGACCCGTGAACCTGTAC
H.umbellatum     GAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCAACCTGCAAAG-CAGAACGACCCGTGAACCTGTAC
L.undulata       -----TCGAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.tuberosa       -----TCGAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.kemaliya       ---GATGCGGAAGGATCATTGTGCAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.serriola       -----TCGAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.scalorides     GAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.sativa         GAACCTGCGGAAGGATCATTGTGCAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.saligna        -----TCGAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.vimineae       -----TCGAACCTGCAAGG-CAGAACGACCCGTGAACATGTAA
L.orientalis     -----TCGAACCTGCAAGGACAGAACGACCCGTGAACATGTAA
I.germanica      TGTGATCTGCGGAGATCATTGTGCAAGCCTACAAG--CAGAACGACCCGTGA-CGTGTAT
I.ensifolia     ACTG--CGGAAGGATCATTGTGCAAGCCTACAAG--CAGAACGACCCGTGAACGTGAT
                    ***** ** * * * * *
    
```

```

H.laevigatum      CAACAACCGGGG--ACGGGAGACTGACCTTGGTCTCGATCCCCGCCACCCTC-CCGGA
H.umbellatum     CAACAACCGGGG--ACGGGAGACTGACCTTGGTCTCGAYCCCCGCCACCCTC-CCGGA
L.undulata       CCACAACCGGGGCG--AAAGGAAATGGGCCTTGGTCTCGATCCCCAACCTCTT-CTGAC
L.tuberosa       CCACAACCGGGG--ACAGGAAATGGGCCTTGGTCTCGATCCCTAACCTTTC-CTGGC
L.kemaliya       CCACAACCGGGG--ACCGTGATAAAGGCCTCGGTCTTATCCCTAACCTTTC-CCGAC
L.serriola       CCACAACCGGGG--ACCGTGATAAAGGCCTCGGTCTTATCCCTAACCTTTC-CCGAC
L.scalorides     CCACAACCGGGG--ACCGGATAAAGGCCTCGGTCTTATCCCTAACCTTTC-CCGAC
L.sativa         CCACAACCGGGG--ACCGTGATAAAGGCCTCGGTCTTAGCCCTAACACTTC-CCGAC
L.saligna        CCACAACCGGGG--ACTGTGATATGGGCCTCGGTCTTATCCTAACCTTTC-CTGAC
L.vimineae       CCACAACCGGGG--ACAGGATAAAGGCCTCGGCCTTGATCCCTAACCTTTC-CCGAC
L.orientalis     CCACAACCGGGG--ACAGGATAAAGGCCTCGGCCTTGATCCCTAACCTTTC-CCGAC
I.germanica      CACCATCCGAGCATCGTAGGGATCGGGCTTTTGTCTATGACCTATTGGCGCCCGTCGAT
I.ensifolia     CAACATCCGAGCATCGTAGGGATCGGGCTTTTGTCTATGACCTATTGGCGCCCGTCGAT
                    * * * * * * * * * * *
    
```

```

H.laevigatum      TTTCGTTTCATGATGCCCCATTC-GGGTCGTGATGGATGTCATGCCGGAACATAACAAC-
H.umbellatum     TTTCGTTTCATGATGCCCCATTC-GGGTCGTGATGGATGTCATGCCGGAACATAACAAC-
L.undulata       GTGATTTGTTGGTGCCTTCTTT-TGGGCATCATGCATCCCGTC--AGTCCATAACAAA-
L.tuberosa       GTGATTTGTTGGTGCCTTCTTT-TGGGCATCATGCATCCCGTC--GGACCATAACCAA-
L.kemaliya       GTGATTCGTGGTGTCTTTTTT-GGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
L.serriola       GTGATTCGTGGTGTCTTTTTT-GGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
L.scalorides     GTGATTCGTGGTGTCTTTTTT-GGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
L.sativa         GTGATTCGTGGTGTCTTTTTT-GGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
L.saligna        GTGAATCCGTGGTGTCTTTTTT-GGGGCATCAGGGATTCTGTC--GGCCATAACAAA
L.vimineae       CT-AATTCATGGCTCTTTTTT-TGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
L.orientalis     CT-AATTCATGGCTCTTTTTT-TGGGCATCATGGATTCCGTT--GGACCATAACAAA
I.germanica      TTGCATCCATGGTCGCTCTTC-GGAGCCTCCTTGATGTCAA--AAGGCGTTAACCAA-
I.ensifolia     TTGCATCCATGGTCGCTCTTC-GGAGCCTCCTTGATGTCAA--AAGGCGTTAACCAA-
                    * * * * * * * * * * *
    
```

```

H.laevigatum      CCCCAGCAGGAAATGTGCCAAGGAAAACAACATATGAGAAGGATGCATCCTGTTTGTCC
H.umbellatum     CCCCAGCAGGAAATGTGCCAAGGAAAACAACATATGAGAAGGATGCATCCTGTYTGTCC
    
```







H.umbellatum YGGAGTCCC-TTCGGTGGACGCACGACTAGTGGTGGTTGAAAAGACCCCTCGTCTGTGTC  
 L.undulata AGGAGTTCCCTTCAGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAAAAGACCTTCGTCTGGGTT  
 L.tuberosa AGGAGTTCCCTTCAGCGGACACACACTAGTGGTGGTTGAACAGACCCCTCGTCTGTGTT  
 L.kemaliya AAGAGTTCCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTTTGTT  
 L.serriola AAGAGTTCCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTTTGTT  
 L.scalorides AAGAGTTCCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTTTGTT  
 L.sativa AAGAGTTCC-TTCGGCGGACGCACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTTTGTT  
 L.saligna AAGAGTTCCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTTTGTT  
 L.viminea AGGAGTTCCCTTCAGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTGTGTT  
 L.orientalis AGGAGTTCCCTTCGGCGGACACACGACTAGTGGTGGTTGAATAGACCCCTCGTCTGTGTT  
 I.germanica AGGAGTCTCCTTTGATGGATACACGGCAAGTGGTGGTTGACAAAACCTTAGTCTCGTGT  
 I.ensifolia AGGAGTCTCCTTTGATGGATACACGGCAAGTGGTGGTTGACAAAACCTTAGTCTCGTGT  
 \*\*\*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\*

H.laevigatum GTGCGTCTTAAGCTGTGAGG-GATGTGCTCGATAAAGACCCCAATGTGTCGCTCGGAC  
 H.umbellatum GTGCGTCTTAAGCTGTGAGG-GAWGTGCTCGATAAAGACCCCAATGTGTCGCTCGGAC  
 L.undulata GTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GAAGCCCTCATCAATGACCCCTTTGTATCGCTTTGGAC  
 L.tuberosa GTGTGTCGTGAGCCGTAAGG-GAAACCCCTCATCAACGACCCCATTTGCATTGCTTCGGAC  
 L.kemaliya GCGTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGCTTCGGAT  
 L.serriola GCGTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGCTTCGGAT  
 L.scalorides GCGTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGCTTCGGAT  
 L.sativa GCGTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GTAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATCGCTTCGGAT  
 L.saligna GTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GAAACCCCTCATCAAAGACCCCACTGTATCGCTTCGGAT  
 L.viminea GTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GAAGCCCTCATCAAAGACCCCATTTGTATTGCTTCGGAC  
 L.orientalis GTGTGTCGTGAGCTGTGAGG-GAAGCCCTCATCAAAGACCCCATCGTATTGCTTCGGAC  
 I.germanica GTGTGTCAGACTTGTGAGGTGATGACCTCGTAAAGTACCCTAACGCGTCTCT-ATGAC  
 I.ensifolia GTGTGTCAGACTTGTGAGG-CGAAGACCTCGTAAAGCACCCCTAACGCGTCTCTTATGAC  
 \* \* \*\* \* \* \*\* \* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\* \* \*\*

H.laevigatum GATGCTTCGACCCGACCCAGGTCAGCGGGACTACCCGCTGAGTTAAGCATATCAAT  
 H.umbellatum GATGCTTCGACCCGACCCAGGTCAGCGGGACTACCCGCTGAGTTAAG-----  
 L.undulata GGTGCTTCGAC-----  
 L.tuberosa GGTGCTTCGAC-----  
 L.kemaliya GATGCTTCGACCCGACCC-----  
 L.serriola GATGCTTCGAC-----  
 L.scalorides GATGCTTCGACCCGACCCGTC-----  
 L.sativa GATGCTTCGACCCGACCCAGGTCAGCGGGACTACCCGCTGAGTTAA-----  
 L.saligna GATG-----  
 L.viminea GATGCTTCGAC-----  
 L.orientalis GATGCTTCGAC-----  
 I.germanica GAAGCT-CGACCCGA---CCCAGGTCGGGTTACTGTTGGTT-----  
 I.ensifolia GAAGCTTCGACCCGACCCAGGTCAGCGGG-----  
 \* \*

H.laevigatum AAGCGGAGGAAAAAACTTACAAGGATTCCTTAGTAAACGGCGAGCGAACCAGGATCAG  
 H.umbellatum -----  
 L.undulata -----  
 L.tuberosa -----  
 L.kemaliya -----  
 L.serriola -----  
 L.scalorides -----  
 L.sativa -----  
 L.saligna -----  
 L.viminea -----  
 L.orientalis -----  
 I.germanica -----  
 I.ensifolia -----

H.laevigatum CCCAGCTTGAAATCGGGCG  
 H.umbellatum -----  
 L.undulata -----  
 L.tuberosa -----  
 L.kemaliya -----  
 L.serriola -----  
 L.scalorides -----  
 L.sativa -----  
 L.saligna -----  
 L.viminea -----  
 L.orientalis -----  
 I.germanica -----  
 I.ensifolia -----

# EK.D trnL-F DİZİLERİNİN HİZALANMASI

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

H.laevigatum      -----CTTTT
H.umbellatum     -----CTTTT
L.sativa         -----
L.saligna        -----
L.serriola       -----
L.scarioloides  -CCCTCTATCCCCAAAAAGACCATTGGCTCCCTAATCTTTATCGTATCCTTTTTTTTT
L.kemal.         TCCCTCTATCCCCAAAAAGACCATTGGCTCCCTAATCTTTATCGTATCCTTTTTTTTT
L.vimineae      -----T
L.orientalis     -----
L.tuberosa       -----T
L.undulata       -----T
I.ensifolia     -----CTATTTTCGTATCCTTTTG
I.germanica      -----TCCCCAAAAAGACCATTGACTCCCTAATTTTTTCGTATCCTTTTG
  
```

```

H.laevigatum      ATTTATCCTTTTTGGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
H.umbellatum     ATTTATCCTTTTTGGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.sativa         CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.saligna        TCGTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.serriola       CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.scarioloides  CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.kemal.         CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.vimineae      CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.orientalis     -TTTTTCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
L.tuberosa       CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCAGTCACTACTCTTTA
L.undulata       CTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGGTTCAAACCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
I.ensifolia     GTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGATTCAAAGTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
I.germanica      GTTTATCCTTTTTTCGTTAGCGATTCAAAGTCTTATCTTTCTCATTCACTACTCTTTA
  
```

\* \* \* \* \*

```

H.laevigatum      TAGTTATAGAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTATTCTCGTATCACATG-----TGATA
H.umbellatum     TAGTTATAGAAATGGATCTGAGCGGAAATGCTATTCTCGTATCACATG-----TGATA
L.sativa         TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.saligna        GAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.serriola       TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.scarioloides  TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.kemal.         TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.vimineae      TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TTATA
L.orientalis     TAC-----AATG-----AGCGTAAA-----ATCACATG-----TTATA
L.tuberosa       TAC-----AATG-----AGCGGAAA-----ATCACATG-----TGATA
L.undulata       TAC-----AATG-----AGCGGAAA-----ATCACATG-----TGATA
I.ensifolia     TAC-----AAATGGATCTGAGCGGAAATGCTGTTCTTATCACATGCCACATGTGACA
I.germanica      TAC-----AAATGGATCTGAGCGGAAATGCTGTTCTTATCACATGCCACATGTGACA
  
```

\* \* \* \* \*

```

H.laevigatum      TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTAC
H.umbellatum     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTAC
L.sativa         TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.saligna        TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.serriola       TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.scarioloides  TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.kemal.         TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.vimineae      TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTAATGATTAC
L.orientalis     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTAATGATTAC
L.tuberosa       TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
L.undulata       TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGACTGATTAC
I.ensifolia     TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTAC
I.germanica      TATATGATACATGTACAAATGAACATCTTTGAGCAAGGAATCCCCATTTGAATGATTAC
  
```

\* \* \* \* \*

```

H.laevigatum      GATCGCTATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
H.umbellatum     GATCGCTATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.sativa         GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.saligna        GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.serriola       GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.scarioloides  GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.kemal.         GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.vimineae      GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.orientalis     GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.tuberosa       GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
L.undulata       GATCGATATTTTATTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
I.ensifolia     GA-----TTTACTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
I.germanica      GA-----TTTACTACTGAAACTTACAAAGTTGTTCTTTTACAAATTTATAGGCC
  
```

\* \* \* \* \*

```

H.laevigatum      CGGGATGAGGCTTTTGAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCCAAGTTCTCTAGTAAAATG
H.umbellatum     CGGGATGAGGCTTTTGAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCCAAGTTCTCTAGTAAAATG
L.sativa         CGGGATGAGGCTTTTGAATACCCTTTCAATTGACATAGACCCCAAGTTCTCTAGTAAAATG
  
```



L.saligna CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.serriola CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.scarioloides CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.kemal. CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.viminea CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.orientalis CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.tuberosa CGGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAAGTTCTCTAGTAAAATG  
 L.undulata CGAGATGAGGCTTTGTACTACCCCTTCAATTGACATAGACCCGAGTTCTCTAGTAAAATG  
 I.ensifolia CTGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAGTTCTCTAGTAAAATG  
 I.germanica CTGGATGAGGCTTTGTAATACCCCTTCAATTGACATAGACCCAGTTCTCTAGTAAAATG  
 \* \* \* \* \*

H.laevigatum AAAATGAGGATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTTG-----  
 H.umbellatum AAAATGAGGATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAG-----  
 L.sativa AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGT-----  
 L.saligna AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTG  
 L.serriola AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGT-----  
 L.scarioloides AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAG-----  
 L.kemal. AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTTGGGATAGCTCAGTGT-----  
 L.viminea AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTT-----  
 L.orientalis AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTT-----  
 L.tuberosa AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGTT-----  
 L.undulata AAAATGAGTATGAGACATGAGGAATAGAA-----  
 I.ensifolia AAAATGAGGATGAGACATCAGGAATAGTCGGGATAGCTCAGTTGGTAGAGCAGAGGACTG  
 I.germanica AAAATGAGGATGAGACATCAGGAATAGTCGGGATAGCTCAGT-----  
 \* \* \* \* \*

H.laevigatum -----  
 H.umbellatum -----  
 L.sativa -----  
 L.saligna AAAATCCTCGTGTCACCCAGTTC  
 L.serriola -----  
 L.scarioloides -----  
 L.kemal. -----  
 L.viminea -----  
 L.orientalis -----  
 L.tuberosa -----  
 L.undulata -----  
 I.ensifolia AAAATCCTCGTGTCAC-----  
 I.germanica -----