

Batı Akdeniz Sahil Kuşağından Toplanan Yonca (*Medicago sativa* L.) Populasyonlarının Moleküler Karakterizasyonu

Mehmet ÖTEN^{*1}, Sebahattin ALBAYRAK²

¹Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 07100, Antalya

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bafra Meslek Yüksek Okulu, 55400, Samsun

(Alınış / Received: 20.01.2016, Kabul / Accepted: 16.03.2016, Online Yayınlanma / Published Online: 06.06.2016)

Anahtar Kelimeler

Yonca,
Medicago sativa L.,
Moleküler karakterizasyon

Özet: *Medicago* tür ve populasyonlarında moleküler markırlar kullanılarak genotipik varyasyon seviyesini belirlemek yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada; Batı Akdeniz sahil kuşağında yer alan, Antalya iline ait 13 ilçede, 26 farklı lokasyonda, doğal vejetasyondan toplanan üstün yonca genotipleri klon yöntemi ile çoğaltılmıştır. Elde edilen 26 genotip ve 2 standart çeşidin aralarındaki benzerlikler, Basit Tekrarlı Sekanslar (SSR) moleküler analiz tekniğiyle, 15 adet primer kullanılarak belirlenmiştir. SSR primerlerinin % 99,7'si polimorfik bant vermiştir. Araştırma sonucunda; kümeleme analizi sonucu oluşan dendograma göre yonca genotipleri 2 ana ve 4 alt gruba ayrılmıştır. Birinci ana grup % 60, ikinci ana grup ise % 65 seviyesinde kendi içerisinde iki alt gruba ayrılmıştır. Benzerlik katsayıları 0.58-0.88 değerleri arasında değişim göstermiştir. En yakın genetik benzerlik Kaş-2 ve Çeşit-1 arasında bulunurken, en uzak ise Gazipaşa-1-Kumluca-2 genotipleri arasında bulunmuştur. Elde edilen bu sonuca göre Batı Akdeniz sahil kuşağından toplanan yonca genotipleri arasında genetik olarak önemli bir varyasyonun olduğu tespit edilmiştir.

Molecular Characterization of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Populations Collected From West Mediterranean Coastal Zone

Keywords

Alfalfa,
Medicago sativa L.,
Moleküler karakterizasyon

Abstract: Molecular markers are widely used to determine the level of genotypic variation in *Medicago* species and populations. In this study, superior alfalfa genotypes collected from 26 different locations of 13 districts of Antalya province in the Western Mediterranean Coastal Zone were reproduced via clonal method. 15 different SSR primers were used to determine the similarities among genotypes at molecular level. SSR primers yielded polymorphic bands at a rate of 99.7 %. According to research results; alfalfa genotypes were divided into 2 main groups and 4 sub-clusters. In the first main group genotypes were divided into two sub-clusters at 60 % similarity level while second group were divide two sub-clusters at 65 % level. Similarity coefficient changed between 0.58 and 0.88 among genotypes. The nearest genetic similarity was detected between Kas-2 and Variety-1. On the other hand, Gazipaşa-1 and Kumluca-2 genotypes were found to be the most distant genotypes. The results of the study revealed a wide genetic variation in the genotypes collected from Western Mediterranean Coastal Zone.

1. Giriş

Yonca (*Medicago sativa* L.) kuru ve sulu şartlarda yetiştirilen önemli bir yem bitkisidir. Birçok kaynaktan diğer yem bitkilerinden ayrı bir yere konarak "Yem bitkilerinin kraliçesi" olarak isimlendirilmektedir [6]. Bunun başlıca sebebi, geniş adaptasyon kabiliyetine sahip olması, toprağa azot bağlaması, birim alandan

kaldırdığı protein miktarının fazlalığıdır. Buna ilave olarak yonca mineral madde ve vitaminler bakımından da çok zengin bir besin kaynağıdır [14].

Yonca, yabancı döllenmiş ve 32 kromozomlu ototetraploid bir türdür. Buna göre kültürü yapılan çeşitler heterojen populasyonlardır [13]. Yonca bitkisinin çiçekleri çok küçüktür dolayısıyla

melezleme zor ve zaman alıcıdır. Diğer yandan kendilenen bitkilerde tohum tutma oranı çok zayıftır [17]. Tüm bu nedenlerden dolayı yoncada sentetik varyete ıslahı uygulanmaktadır. Sentetik çeşit oluşumu için klon seçimine özellikle dikkat edilmelidir. Her şeyden önce verimi düşürücü kendileme etkilerinden sakınmak için akraba genotiplerin birbirleriyle kombinasyonundan kaçınmak gerekir. Bu nedenle sentetik varyete ıslahına katılacak hatların kromozom özelliklerinin incelenerek yakın akraba olmayan hatlardan sentetik çeşit oluşturulmalıdır [25]. İslahta kullanılacak materyallerin yakın akraba olup olmadığının belirlenmesinde ise morfolojik ve biyokimyasal işaretleyicilerin yerine, son yıllarda DNA işaretleyicileri kullanılmaya başlanmıştır. RAPD, AFLP, SSR ve ISSR DNA işaretleyicileri, kültür bitkilerinde genetik çeşitliliğin saptanmasında yoğun olarak kullanılmaktadır. DNA markırları yardımıyla araştırmacılar morfolojik olarak çok benzerlik gösteren tür, çeşit veya tipler ve ebeveynleri hakkında kesin bilgiler elde edebilmektedir [11],[15],[1]. Ayrıca [2], moleküler belirteçlerin heterosisten yararlanmak için çeşitli fırsatlar sunduğunu, [4] ise yonca genomunda bol miktarda SSR DNA'nın bulunduğunu kalıtımının Mendel kurallarına uygun olduğunu ortaya koymuş ve *Medicago* türlerinde SSR'ların rahatlıkla kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Özetle; bitkisel gen kaynağının kullanılabilmesi için kültüre alınmış türlerin ve bunların yabancı akrabalarının genetik çeşitliliğinin dağılımının detaylı olarak bilinmesi gerekmektedir [26]. Ülkemiz 30 *Medicago* türü için mikro gen merkezi konumunda [10] olmasına rağmen populasyonlar arasındaki ilişkiler kısmen morfolojik olarak tanımlanmakla birlikte, moleküler yöntemlerle tanımlama çalışmaları oldukça sınırlıdır.

Bu çalışma ile Antalya doğal vejetasyonundan toplanan genotipler arasında akrabalık derecelerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi ve ıslah çalışmalarında kullanılacak bireylerin seçiminin kolaylaştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitkisel materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak, 26 lokasyondan toplanıp, klonla çoğaltılmış 26 farklı genotip ile iki adet çeşit (Verdor ve Elçi) kullanılmıştır. Antalya ili sahil kuşağındaki 13 ilçenin doğal vejetasyonundan, her ilçeden 2'şer lokasyon olmak üzere toplam 26 lokasyondan toplanan genotipler, klonla çoğaltılarak, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü arazilerinde yetiştirilmiştir. Genotiplerin tamamı ot tipi yonca olup, toplandığı lokasyonlara ait rakım ve koordinatlar Çizelge 1'de verilmiştir.

2.2. DNA ekstraksiyonu ve SSR analizi

Moleküler karakterizasyon işlemleri tarlada gelişen klonların çiçeklenme döneminde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan yonca bitkilerine ait DNA'lar [5] yöntemi kullanılarak izole edilmiştir. Her populasyonu temsil eden 10 farklı klondan birer yaprak örneği alınarak populasyonlara ait toplam DNA izole edilip, kullanılıncaya kadar derin dondurucuda -20 °C'de saklanmıştır. Populasyonlara ilave olarak 2 yonca çeşidinden de DNA elde edilmiş ve çalışmada kullanılmıştır. DNA'ların kalitesi ve konsantrasyonları, lamda DNA kontrolü kullanarak ve etidyum bromid ile boyanarak, % 1 lik agaroz jelde tespit edilmiştir.

PCR reaksiyon ve amplifikasyon koşulları, [8] ve [4]'e göre yapılmıştır. PCR ürünlerine bromophenol blue eklenerek ve % 2'lik agaroz jellere yüklenmiş, 1xTAE bufferi içinde 3 saat boyunca sabit akımda ayrıştırılmıştır. Jeller etidyum bromit ile boyanarak jel görüntüleme sistemi ile fotoğrafları alınmıştır.

Moleküler datanın analizi için bantların var olup olmamasına göre 1/0 matriksi oluşturulmuştur. Genotipler arasındaki genetik çeşitlilik için pairwise genetik benzerlik simple matching coefficient metoduna göre yapılmıştır [21]. Dendogram unweighted pair group method average (UPGMA) gruplandırma metoduna göre NTSYS-pc (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır [19].

Çizelge 1. Lokasyonlara ait rakım ve koordinatlar

No	Lokasyon	Koordinat	Rakım(m)
1	Gazipaşa-1	36 S 0435431/UTM4014344	5
2	Gazipaşa-2	36 S 0435442/UTM4017345	5
3	Alanya-1	36 S 0394617/UTM4051485	5
4	Alanya-2	36 S 0421487/UTM4035629	7
5	Manavgat-1	36 S 0356909/UTM4074395	17
6	Manavgat-2	36 S 0370937/UTM4065313	15
7	Serik-1	36 S 0336258/UTM4086610	20
8	Serik-2	36 S 0319221/UTM4089489	15
9	Aksu-1	36 S 0309140/UTM4090629	38
10	Aksu-2	36 S 0308518/UTM4093599	41
11	Kepez-1	36 S 0291459/UTM4102379	94
12	Kepez-2	36 S 0291423/UTM4094089	90
13	Döşemealtı-1	36 S 0287925/UTM4115934	98
14	Döşemealtı-2	36 S 0287130/UTM4110832	95
15	Konyaaltı-1	36 S 0283475/UTM4084515	5
16	Konyaaltı-2	36 S 0286970/UTM4081741	5
17	Kemer-1	36 S 0277833/UTM4043605	5
18	Kemer-2	36 S 0280860/UTM4058454	10
19	Kumluca-1	36 S 0254201/UTM4027215	6
20	Kumluca-2	36 S 0269439/UTM4024953	80
21	Finike-1	36 S 0250386/UTM4026598	20
22	Finike-2	36 S 0242661/UTM4023368	1
23	Demre-1	36 S 0231189/UTM4014765	4
24	Demre-2	36 S 0233864/UTM4016756	2
25	Kaş-1	35 S 0725932/UTM4010524	2
26	Kaş-2	35 S 0716651/UTM4017123	19

Bu çalışmada farklı duraklardan toplanan ve klonla çoğaltılarak elde edilen yonca genotiplerinin moleküler karakterizasyonu SSR markır sistemi kullanılarak yapılmıştır. DNA amplifikasyonu için kullanılan primer sekansları Çizelge 2'de verilmiştir. Primer sekansları daha önce farklı çalışmalarda kullanılan ve yüksek polimorfizm gösteren sekanslar arasından seçilmiştir. Çalışmada populasyonlar arasındaki polimorfizmleri tespit etmek için 5' ve 3' anchored 15 adet primer kullanılmıştır. Yonca çeşidi ve populasyona ait DNA'lar tüm primer sekansları ile taranarak, en yüksek polimorfizm açığa çıkaran primer sekansları tespit edildikten sonra tüm populasyonlar bu primerler ile taranmıştır.

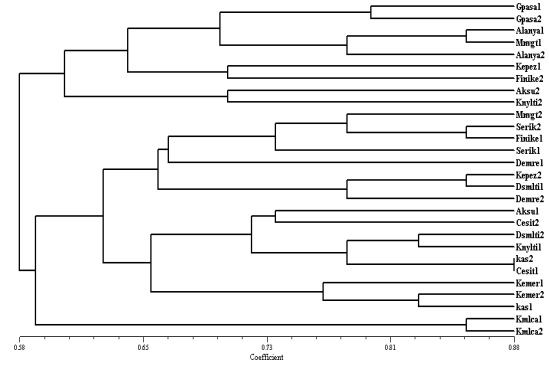
Çizelge 2. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin sekansları

Primerin Adı	Baz dizilimi	Baz dizilimi
FMT13	GATGAGAAAATGAAA AGAAC	CAAAAACACTCACTAACA CAC
MTIC451	GGACAAAATTGGAAG AAAAA	AATTACGTTTGTGGAT GC
MTIC189	CAAACCTTTTCAATT TCAACC	ATGTTGGTGATCCTTCT GC
MAA6604 56	GGGTTTTTGATCCAGA TCTTAA	GGTGGTCATACGAGCTCC
B14B03	GCTGTCTTCTTCAA GCTCAC	CTGACTGTGTTTTATGC
MTIC93	AGCAGGATTTGGGACA GTTGT	ACCGTAGCTCCCTTTTCC A
MTIC432	TGGAATTTGGGATAT AGGAAG	GCCATAAGAACTTCCACT T
MTIC299	AGGCTGTTGTTACACC TTTGTC	AAATGCTTAAATGACAAA T
AFat15	TTACGGGTCTAGATTA GAGAGTATAG	CAAAATGAGTATAGGGAG TGG
AFca1	CGTATCAATATCGGGC AG	TGTTATCAGAGAGAGAAA GCG
AFctt1	CCCATCATCAACATTT TCA	TTGTGGATTGGAACGAGT
AFct45	TAAAAACGGAAAGA GTTGGTTAG	GCCATCTTTTCTTTTGCT TC
AFca16	GGTCGAACCAAGCATG T	TAAAAAACATTACATGAC CTCAA
AFct60	CCTCCCTAACTTTCCA ACA	TGGATCAACGTGTCTTTC A
AFca11	CTTGAGGGAACATTTG TTGAGT	AACGTTTCCAAAACATA CTT

3. Bulgular

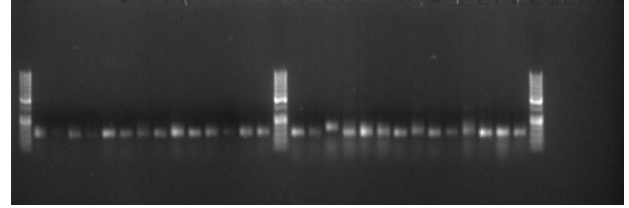
Moleküler çalışmada elde edilen değerler ile yapılan kümeleme analizi sonucu oluşan dendogram, Şekil 1.'de verilmiştir. Dendogramın incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, kullanılan *M. sativa* L. genotipleri 0.58 benzerlik seviyesinde 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci ana grup, % 60 seviyesinde iki alt gruba ayrılmıştır. Bu grupta Gazipaşa-1, Gazipaşa-2, Alanya-1, Alanya-2, Manavgat-1, Kepez-1 ve Finike-2 yer alırken, birinci ana gruba bağlı diğer alt grupta Aksu-2 ve Konyaaltı-2 genotipleri yer almıştır. İkinci grupta kendi içerisinde % 65 seviyesinde iki alt gruba ayrılmıştır. İkinci gruba bağlı birinci alt grupta Manavgat-2, Serik-1, Serik-2, Aksu-1, Demre-1, Kepez-2, Döşemealtı-1, Demre-2, Döşemealtı-2,

Konyaaltı-1, Kaş-1, Kemer-1, Kemer-2, Kaş-2, Çeşit-1 ve Çeşit-2 olurken, ikinci alt grupta ise Kumluca-1 ve Kumluca-2 genotipleri yer almıştır.



Şekil 1. *M. sativa* L. genotiplerinin UPGMA'ya göre kümeleme dendogramı

Çalışmada kullanılan tüm primerler bant üretmiş ve toplamda 34 banttan 33'ü polimorfik olarak tespit edilmiştir. Ancak polimorfizm oranları bakımından primerler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. En fazla bant ve polimorfizm üreten primerler Afca1, MTIC93 ve MTIC451 olmuştur. En çok bant üreten primerlerden biri olan Afca1'e ait jel görüntüsü Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Afca1 primerine ait jel görüntüsü

Çizelge 3. Yonca hat ve çeşitlerinde polimorfizm üretmek için kullanılan primerler ve primer başına üretilen toplam bant sayıları, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları.

Primer adı	Toplam bant sayısı (Adet)	Polimorfik bant sayısı (Adet)	Polimorfizm oranı (%)
AFAT15	3	3	100
AFca1	4	4	100
AFca11	2	2	100
AFca16	2	2	100
AFct45	3	3	100
AFct60	3	2	66.6
AFctt1	2	2	100
B14B03	2	2	100
FMT13	2	2	100
MAA66045	1	1	100
MTIC93	4	4	100
MTIC299	1	1	100
MTIC432	2	2	100
MTIC451	4	4	100
MTIC189	2	2	100
Toplam	34	33	-
Ortalama	2.26	2.20	97.77

Çizelge 4. Yonca hat ve çeşitleri arasında ikili karşılaştırmalarla elde edilen benzerlik katsayıları (%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28			
1	Gazipaşa1	1.0																													
2	Gazipaşa2	0.79	1.0																												
3	Alanya1	0.70	0.70	1.0																											
4	Alanya2	0.70	0.70	0.70	1.0																										
5	Manavgat1	0.70	0.70	0.80	0.70	1.0																									
6	Manavgat2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	1.0																								
7	Serik1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.73	1.0																							
8	Serik2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.73	0.73	1.0																						
9	Aksu1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.62	0.62	0.62	1.0																					
10	Aksu2	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.57	0.57	0.57	0.57	1.0																				
11	Kepez1	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.57	0.57	0.57	0.57	0.61	1.0																			
12	Kepez2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.57	1.0																		
13	Döşemealtı1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.57	0.85	1.0																	
14	Döşemealtı2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.72	0.57	0.66	0.66	0.66	1.0																
15	Konyaaltı1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.72	0.57	0.66	0.66	0.81	1.0																
16	Konyaaltı2	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.57	0.57	0.57	0.57	0.72	0.66	0.57	0.57	0.57	1.0															
17	Kemer1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	1.0														
18	Kemer2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	0.76	1.0													
19	Kumluca1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	1.0													
20	Kumluca2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.85	1.0												
21	Finike1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.72	0.72	0.72	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	1.0										
22	Finike2	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.72	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	1.0									
23	Demre1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.57	1.0								
24	Demre2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.57	0.72	0.72	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	1.0							
25	Kaş1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.57	0.72	0.81	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	1.0						
26	Kaş2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.72	0.57	0.66	0.66	0.72	0.72	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	1.0				
27	Çeşit-1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.72	0.57	0.66	0.66	0.72	0.72	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.81	1.0		
28	Çeşit-2	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.66	0.66	0.66	0.72	0.57	0.66	0.66	0.72	0.72	0.57	0.66	0.66	0.66	0.57	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.72	0.72	1.0	

En düşük bant ve polimorfik bant sayısı MAA660456 ve MTIC299 primerlerinden elde edilmiştir. Primerlere ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları Çizelge 3'te gösterilmiştir.

M. sativa L. genotiplerinin oluşturduğu dendogram ile genotiplerin toplandıkları lokasyonları karşılaştırdığımızda; kullanılan primerlere göre elde edilen dendogramda oluşan gruplarla, genotiplerin toplandığı lokasyonlar birbirine kısmen benzer bulunmuştur.

Lokasyon olarak birbirine yakın olan Gazipaşa-1, Gazipaşa-2, Alanya-1, Alanya-2 ve Manavgat-1 genotipleri aynı grubun aynı alt grubunda yer alırken,

lokasyon olarak birbirinden uzak olan Gazipaşa-1 ve Kumluca genotipleri oluşan dendogramda en uzak olarak tespit edilmişlerdir. Yine birinci ana grubun diğer alt grubunda ise birbirine yakın olan Aksu-2 ve Konyaaltı-2 lokasyonu yer almıştır.

28 adet *M. sativa* L. genotipinden elde edilen genetik benzerlik değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. Genotipler arasında genetik benzerlik katsayıları 0.58-0.88 değerleri arasındadır. En yakın genetik benzerlik Kaş-2 ve Çeşit-1 arasında bulunurken, en uzak benzerlik Gazipaşa-1 ile Kumluca-2 genotipleri arasında bulunmuştur.

Moleküler yöntemlerden elde edilen verilerle oluşturulan dendogram ve hesaplanan benzerlik

katsayı, oluşturulan bant ve polimorfik bant sayısı değerlerine göre; genotipler arasında yüksek oranda genetik varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

4. Tartışma ve Sonuç

Yoncada yapılan moleküler karakterizasyon çalışmalarında;

Mısır ekolojik şartlarında yürütülen araştırmada,[3], 17 yerel populasyon ve 3 İtalyan çeşidiyle genotiplerin kümeleme analizi sonucunda 2 gruba ayrıldığını bildirmişlerdir. [16], İran ve dünyanın değişik bölgelerinden yonca genotipi arasındaki genetik varyasyonu tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada kümeleme analizi sonucunda 5 farklı grup oluştuğunu, [12], İranda yaptıkları çalışmada ise 4 farklı grup oluştuğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada elde edilen grup sayısı [3] ile benzerlik gösterirken, [12] ve [16]'den düşük bulunmuştur.

Yoncada 4 farklı İtalyan ekotipiyle yaptıkları çalışmada, [15], ekotipler arasında yüksek oranda polimorfizm tespit etmişlerdir. [3], çalışmalarında 31 polimorfik bant ve yüksek polimorfizm elde etmişler. [9], yaptıkları çalışmada 8 adet primer kullanmışlar, toplam 63 bant elde etmişler ve elde ettikleri bantlardan 51 adedini polimorfik olarak tespit etmişlerdir. [7] ise toplam 68 bant elde etmişlerdir. [12], İran'da yaptıkları çalışmada ortalama 4.6 bant elde etmişlerdir. Çalışmada elde edilen polimorfik bant sayısı [3] ile benzerlik gösterirken, diğer çalışmalardan düşük bulunmuştur.

İran ve dünyanın değişik bölgelerinden yonca genotipi arasındaki genetik varyasyonu tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada, [16], ekotiplerin temin edildiği ülkelere göre gruplar oluşturduğunu bildirirken, [24] ve [22] genetik uzaklığın tam olarak coğrafi uzaklıkla ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada lokasyonlara göre genetik benzerliğin yüksek bulunması [16] ile benzerlik gösterirken [24] ve [22] ile benzerlik göstermemektedir.

Yoncada yaptıkları çalışmalarda [24], 27 farklı yonca populasyonunda benzerlik katsayısının % 89,02 olduğunu, Mısırdaki yürüttükleri araştırmada 17 yerel populasyon ve 3 İtalyan çeşidinde, % 89'luk bir benzerlik olduğunu [3],[8] ise 7 adet yonca genotipinde % 66-71 arasında genetik benzerlik olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada elde edilen değerler diğer çalışmalarda uyum içerisinde.

Yoncada moleküler karakterizasyon ile genetik yakınlığın tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, [20], [16], [12], [23], [18], [15], [24] ve [22]'de uyguladıkları farklı moleküler karakterizasyon yöntemleri sonucunda populasyonlar arasında benzer şekilde yüksek seviyede genetik çeşitlilik olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; Batı Akdeniz sahil kuşağından toplanan 26 yonca genotipinde, SSR yöntemiyle yapılan moleküler karakterizasyon çalışmasında, DNA benzerlikleri bakımından 2 ana grup altında 4 adet alt grup oluşmuştur. Kümeleme analizi sonucunda genetik benzerlik katsayıları 0.58-0.88 değerleri arasında değişim göstermiştir. En yakın genetik benzerlik Kaş-2 ve standart Çeşit-1 arasında bulunurken, en uzak benzerlik lokasyon bakımından birbirlerine uzak olan Gazipaşa-1 ile Kumluca-2 genotipleri arasında bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre genotipler arasında geniş bir varyasyonun olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm primerler bant üretmekle birlikte, polimorfizm oranları arasında farklılık gözlemlenmiştir. En fazla sayıda bant ve polimorfizm üreten primerler 4'er bantla Afca1, MTIC93 ve MTIC451 primerleri olmuştur. En düşük miktarda toplam bant sayısı ve polimorfik bant sayısı 1'er bantla MAA660456 ve MTIC299 primerlerinde bulunmuştur.

Moleküler karakterizasyon sonrası populasyonlar arasında yüksek seviyede genetik çeşitlilik olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar; Batı Akdeniz sahil kuşağındaki mevcut yonca genotip ve populasyonları hakkında ön bilgi edinmemizi sağlarken, aynı zamanda ileride yapılacak ıslah çalışmaları için de bu materyallerin ümitvar olduğunu göstermektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yürütülen Doktora çalışmasının bir bölümünü içermektedir. SDÜ-BAP-3190-D1-12 numaralı projeyi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Kaynakça

- [1] Brummer, E. C. 1998. Defining heterotic groups in alfalfa: A molecular marker perspective. Proceedings of the 36th North American Alfalfa Improvement Conference. Bozeman, Montana August 2-6-1998
- [2] Brummer, E.C., Bouton J.H., Kochert, G. 1995. Analysis of annual *Medicago* species using RAPD markers. *Genome*, 38; 362-367.
- [3] Carelli, M., Gnocchi, G., Scotti, C. 2009. Alfalfa germ plasm from a Saharaoasis: characterization by means of bio-agronomic trait and SSR markers. *Plant Breeding* 128, 271—277 (2009) doi:10.1111/j.1439-0523.2008.01573.x, Berlin
- [4] Diwan, N., Bouton, J.H., Kochert, G., Cregan, P.B. 2000. Mapping of Simple sequencerepeat (SSR)

- DNA markers in diploid and tetraploid alfalfa. *Theor Appl Genet* 101:165-172.
- [5] Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13-15.
- [6] Elçi, Ş. 2005. *Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri*. Mart Matbası, ISBN 975-407-189-6, Ankara.
- [7] Falahati-Anbaran, M., Habashi, A. A., Esfahany, M., Mohammadi, S. A., Ghareyazie, B. 2007. Population genetic structure based on SSR markers in alfalfa (*Medicago sativa* L.) from various region scontiguousto the centres of origin of the species. *Journal of Genetics*, Vol. 86, No. 1, April 2007
- [8] Flajoulot, S., Ronfort, J., Baudouin, P., Barre, P., Huguët, T., Huyghe, C., Julier, B. 2005. Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 1420-1429.
- [9] Habibi, B., Farshadfar, M., Safari, H. 2012. Evaluation of Genetic Diversity in 18 Genotypes of Alfalfa (*Medicago Sativa*) Using of Molecular ISSR Markers. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. Available online at www.ijagcs.com IJACS/2012/4-21/1573-1578. ISSN 2227-670X ©2012 IJACS Journal
- [10] Harlan, J. R. 1971. Agricultural Origins Centre and non-centers. *Science*, 174, 468- 474.
- [11] Karaca, M., Saha, S., Zipf, A., Jenkins, J.N., Lang, D.J. 2002. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.). Evidence from chloroplast and nuclear DNA finger printing. *Crop Science* 42: 2118- 2127
- [12] Keivani, M., Ramezanpour, S. S., Soltanloo, H., Choukan, Rajab, Naghavi, M., Ranjbar, Mojtaba. 2010. Genetic diversity assessment of alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations using AFLP markers *Australian Journal of Crop Sicience* AJCS 4(7):491-497 (2010) ISSN:1835-2707
- [13] Mckersie, B., Bowley, S. 1993. Synthetic seeds of alfalfa. In: Redenbaugh K (ed) *Synseeds: Applications of Synthetic Seeds to Crop Improvement* CRC Press, Boca Raton, pp. 231-256.
- [14] Manga, Ü., Acar, Z., Ayan, İ. 1995. *Baklagil Yem Bitkileri*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu No 7.
- [15] Mengoni, A., Gori, A., Bazzicalupo, M. 2000. Use of RAPD and microsatellite (SSR) variation to ases genetic relationships among populations of tetraploidalfalfa, *Medicago sativa*. *Plant Breeding*, 119, 311-317.
- [16] Mousavia, F., Sharifabadb, H. H., Allahdooc, M. 2010. Investigation of genetic diversity in alfalfa ecotypes collection using multivariate analysis based on morphological traits. *Plant Ecophysiology* 2 (2010) 103-108
- [17] Poehlman, J.M.1983. *Breeding Field Crops*. Second edition. The AVI Publishing Company, Inc, Westport, Connecticut. Second Printing.
- [18] Qiang, H., Chen, Z., Zhang, Z., Wang, X., Gao., H., Wang, Z. 2015. Molecular diversity and population structure of a worldwide collection of cultivated tetraploid alfalfa (*Medicago sativa subsp.sativa* L.)germplasm as revealed by micro satellite markers. *PLoSOne*. 2015 Apr 22;10(4):e0124592.doi:10.1371/journal.pone.0124592.
- [19] Rohlf, F.J. 1991. *NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Exeter Software, Setauket, NY, USA.
- [20] Sledge, M. K., Bouton, J. H., Kochert, G. 1998. Molecular marker diversity as a means of selecting parents for synthetic cultivars. *Proceedings of the 36th North American Alfalfa Improvement Conference*. Bozeman, Montana, August 2-6, 1998.
- [21] Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. 1973. *Numerical taxonomy*. W.H. Freeman Co., San Francisco, 573s, USA.
- [22] Touil, L., Guesmi, F., Fares, K., Zagrouba, C., Ferchichi, A. 2008. Genetic diversity of some mediterranean populations of the cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using SSR markers. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11 (15), 1923-1928.
- [23] Tucak, M., Popović, S., Čupić, T., Šimić, G., Gantner, R., Meglič, V. 2009. Evaluation of alfalfa germplasm collection by multivariate analysis based on phenotypic traits. *Romanian Agricultural Research*, 26: 47-52.
- [24] Tucak, M., Popovic, S., Bolaric, S., Kozumplik, V. 2008. Agronomic evaluation of alfalfa genotypes under ecological comditions of eastern Croatia. VII. Alps-Adria Scientific Workshop, *Cereal Research Communications*, 36, 651- 654.
- [25] Tuğay, E. 1996. Genel Bitki Islahı. Gazi Osman Paşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Ders Notları s. 223 Tokat.
- [26] Ulukapı, K., Onus, A.N. 2013. Selekte Edilmiş Bazı Yerel Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu. *Tarım Bilimleri Dergisi* 18, 277-286.