

Türkiye Orjinli Yulaf Genotiplerinin Basit Dizi Tekrarları (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu

Ali TEKİN¹ Erdem ASLAN¹ Sevgi HEREK² Tevrican DOKUYUCU² Hasan GEZGİN³,
Halil TEKEREK¹ Ziya DUMLUPINAR¹ Aydın AKKAYA²

¹KSÜ Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Kahramanmaraş

²KSÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş

³Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Kahramanmaraş

✉ : tdokuyucu@ksu.edu.tr

Geliş (Received): 04.03.2016

Kabul (Accepted): 28.06.2016

ÖZET : Yulaf bitkisinde moleküler araçlar buğday, mısır ve arpaya göre daha az olmakla birlikte son zamanlarda, oldukça önemli miktarda basit dizi tekrarları (SSR) ve tek nükleotid poliformizmi (SNP) markörleri geliştirilmiştir. Bu çalışmada, SSR markörleri kullanılarak farklı gen bankalarından elde edilen Türkiye orijinli 384 yulaf genotipinin genetik çeşitliliği incelenmiştir. Yulaf genotipleri saksılara ekilmiş ve yapraklarından DNA izolasyonu yapılmıştır. PCR ve elektroforez işleminden sonra DNA bantları skorlanmış, elde edilen veriler NTSYSpc 2.21q analiz programları kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda, yulaf genotipleri 40 SSR markörü ile genotiplenmiş ve 130 allel elde edilmiştir. Elde edilen bantlar kullanılarak oluşturulan dendrograma bakıldığında Ülkemiz genetik kaynaklarından olan yerel yulafın oldukça geniş bir varyasyon gösterdikleri belirlenmiştir. Genotipik verilerin analizi sonucunda yerel yulaf çeşitlerinin geniş bir dağılımla birlikte temelde % 51'lik genetik benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan SSR markörlerinden AB_AM_467, AB_AM_829 ve AB_AM_874 markörleri 5 allel ile en çok bant elde edilen markörler olmuştur. Moleküler analizlerin en önemli sonuçlarından bir tanesi de genotiplerin birbirlerine akrabalıklarının yanı sıra, duplikasyonları önlemesi açısından TL462 ve TL464 genotiplerinin birbirlerine % 100 benzer bulunmasıdır.

Araştırmada, Türkiye kaynaklı yulaf genotiplerinin birbirlerine olan genetik mesafeleri belirlenmiş olup, yulaf ıslah programlarında özellikle birbirlerine uzak akrabaların melezlenmesi ile genetik varyasyonlar artırılabilir. Bunun dışında tek tohum soyundan elde edilen yerel genotipler gen bankasına kazandırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yulaf, *Avena sativa*, *Avena byzantina*, Moleküler karakterizasyon, SSR

Molecular Characterization of Turkish Oat Genotypes Using Simple Sequence Repeats (SSR) Markers

ABSTRACT : The molecular tools for oat are less than wheat, maize and barley when they were compared. However, in recent years a huge number of simple sequence repeats (SSR) and single nucleotide polymorphism (SNP) markers were developed. In this study, genetic diversity of 384 Turkish oat genotypes, obtained from different gene banks, were investigated by using SSR markers. Oat genotypes were planted to the pots and DNAs from their leaves were isolated. After the PCR and electrophoresis process, the DNA bands were scored, data were analyzed by using NTSYSpc 2.21q software and a dendrogram was created.

Based on the molecular marker analysis, oat genotypes were screened by 40 SSR markers and those markers interrogated 130 loci. According to the dendrogram generated by genotypic data, Turkish oat landraces showed a wide distribution and 51% similarity. Among the SSR markers used, AB_AM_467, AB_AM_829 and AB_AM_874 were interrogated 5 loci being the most allelic ones. One of the most important results of the molecular analysis, it is revealed that the TL462 and TL464 were identical and that was important to prevent duplication, besides the genetic diversity.

In the research, the genetic diversity among the oat lines originated from Turkey was determined and making crosses between most diverse ones might expand the genetic variations in the oat breeding programs. In addition, landraces derived from single seed were deposited to the genbank.

Keywords: Oat, *Avena sativa*, *Avena byzantina*, Molecular characterization, SSR

GİRİŞ

Yulaf (*Avena sativa* L.), dünyada ve ülkemizde kültürü yapılan hayvan yemi ve insan beslenmesinde kullanılan bir tahıl bitkisidir (Hoffmann, 1995; Peterson ve ark., 2005; Dumlupınar, 2010). Yaklaşık olarak iki bin yıllık geçmişi olan yulaf dünyada ekim, üretim bakımından ve serin iklim bitkileri içerisinde üçüncü, Türkiye'de ise buğday, arpa ve çavdardan sonra

dördüncü sırada yer almaktadır. Yulaf ürünleri son yıllarda sağlıklı beslenme diyetlerinde oldukça önemli bir yer tutmaya başlamıştır. Ayrıca, buğday ve arpa ile kıyaslandığında serin ve yağışlı iklimler ile düşük verimli toprakları içeren elverişsiz arazilerde dahi yetiştirilebilmesiyle ünlüdür (Hoffmann, 1995). Yulaf bitkisinin dünya geneline yayılmış yabani, yabancı ot ve tarımı yapılan olmak üzere birçok poliploidi türü vardır.

Türkiye *Avena sativa* ve *Avena byzantina*'nın gen merkezlerinden olması nedeniyle ülkemizde bu türlere ait çok sayıda yerel çeşit bulunmaktadır. Yerel çeşitler genetik çeşitliliği artırmak için önemli gen kaynaklarıdır ve yüksek kalitede özelliklere sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesine olanak sağlarlar. Yerel çeşitler arasında genetik çeşitliliğin ve benzerliğin tanımlanması gen bankalarındaki duplikasyonun önlemesi açısından da oldukça önemlidir.

Ülkemiz, kültürü yapılan *Avena sativa* L. (beyaz yulaf) ve *Avena byzantina* Coch. (kırmızı yulaf)'un önemli gen merkezlerinden bir tanesidir. Ülkemizdeki yerel gen kaynaklarının değerlendirilmesi amacıyla ilk çalışmalar Eskişehir Tohum Islah İstasyonu, Yeşilköy Tohum Islah İstasyonu, Ankara Tohum Islah İstasyonu ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından bazı seleksiyon çalışmaları olarak yapılmış ve bu çalışmalar neticesinde bazı yerel materyaller seçilerek üreticilere dağıtılmıştır (Kün,1988). Bunun dışında ülkemizde yerel yulaf materyalinin toplanması ile ilgili bazı çalışmalar yapılmış ve Türkiye orijinli çok sayıda yerel yulaf materyalinin yurtdışındaki gen bankalarında bulunduğu belirlenmiştir (Dumlupınar, 2010).

Ülkemizde yulaf genetik kaynakları ulusal gen bankamız olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAE) adı altında kurulan Bitki Genetik Kaynakları Bölümü ve Tarım Bakanlığına ait Türkiye Tohum Gen Bankası tarafından muhafaza edilmektedir. Ulusal gen bankamızda hazırda bulunan *Avena sativa* cinsine ait 218, *Avena byzantina* cinsine ait 94 adet yerel çeşit bulunmaktadır. Bununla birlikte, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünde (BDUTAE) de 55 adet yerel yulaf çeşidi bulunmaktadır. Ancak, uluslararası gen bankalarında, bizim elimizde bulunan bu rakamların çok çok üstünde Türkiye'ye ait yerel yulaf çeşitleri bulunmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Departmanına bağlı Ulusal Küçük Taneli Bitkiler koleksiyonunda (USDA-NSGC) 513 adet, Kanada'da bulunan Bitki Genetik Kaynakları Koleksiyonunda (PGRC) 307 adet, Almanya'da bulunan Bitki Genetik ve Kültür Bitkileri Araştırma Enstitüsü (IPK) koleksiyonunda 216 adet, Rusya'da bulunan Vavilov Enstitüsü (VIR) koleksiyonunda ise 200 adet Türkiye orijinli yerel yulaf çeşidi bulunmaktadır (Dr. Igor Loskutov ile ikili görüşme).

Muhafaza çalışmaları yulaf yetiştiriciliği, çeşit ıslahı ve gen kaynaklarının tanımlanması bakımından oldukça önemlidir. Bu çalışmayla, ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanıp yurtdışındaki gen bankalarında muhafaza edilen ve anavatanı Türkiye olan *Avena sativa* ve *Avena byzantina* türlerine ait yulaf hatlarının, moleküler karakterizasyonu ile yulaf ıslah programlarında kullanabilecek oldukça önemli verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma ülkemizde yulaf tarımının yaygınlaştırılması ve ekonomik öneminin artırılması amacıyla da önemlidir. Bu şekilde ülkemiz

şartlarına uygun yeni çeşitlerin geliştirilmesinin önu açılacağı gibi ekonomik önemi de artabilecektir. Diğer taraftan, farklı gen kaynaklarının muhafazası dünyanın en önemli konuları arasına girmiştir. Bu amaçla, USDA-NSGC ve Kanada PGRC'de bulunan Türkiye orijinli *Avena sativa* ve *A. byzantina* türlerine ait tüm yerel yulaf çeşitleri Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü tohum bankasına kazandırılmıştır.

Canlı genomunda belli bir lokusta rastgele ardışık olarak dizilmiş kısa baz tekrarları STR (Short Tandem Repeats) olarak bilinmektedir. Bunların 1 ile 6 bazlı tekrarlarından oluşan markörler mikrosatellit veya basit dizi tekrarları SSR (Simple Sequence Repeats) olarak adlandırılmaktadır. (Weber ve May, 1989; Liu, 1997). SSR markörlerindeki baz uzunluğu genellikle 100'den azdır. (Liu, 1998). Mikrosatellitler prokaryot ve ökaryot genomunda herhangi bir bölgede bulunabilir fakat prokaryotlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olmasıyla birlikte, ökaryot canlılardaki rolü tam olarak bilinmemektedir (Bennett, 2000). Mikrosatellit markörler, yaygın olarak 2 nükleotidli tekrarlardan [(CA)_n] oluşmakla birlikte farklı formlarda da (AC, AT, AAC, AAT, CCG vb.) bulunabilmektedir (Ellegren ve ark.,1997).

SSR markörleri, PCR teknolojisinin yardımıyla moleküler çalışmalarda en çok tercih edilen markör sistemlerinden bir tanesidir (Weber ve May, 1989; Liu, 1998). Mikrosatellitlerde tekrar bölgelerini kuşatan DNA dizileri bir türün bireylerinde aynı olmasına rağmen tekrar dizilim sayıları bireyler hatta bireyin homolog kromozomları arasında dahi farklılık gösterebilmektedir.

Bu çalışmada, 384 adet yulaf genotipinin SSR markörleri (40 adet) ile moleküler karakterizasyonu yapılarak, akrabalık dereceleri belirlenen genotiplerin ıslah programlarında kullanılması ve birbirlerinin aynısı olan genotipler tespit edilerek muhafazasında duplikasyonların önlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait Tarımsal Biyoteknoloji laboratuvarı ve Üniversite, Sanayi, Kamu İşbirliği Merkezi (ÜSKİM) laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Materyal

Araştırmada *Avena sativa* ve *Avena byzantina* türlerine ait, USDA-NSGC (320 adet) ve Kanada PGRC'den elde edilen (64 adet) 384 adet yerel yulaf materyali kullanılmıştır. Toplam 384 adet heksaploid yulaf genotipi Çizelge 1'de belirtilen Dumlupınar ve ark. (2016a) tarafından geliştirilen 40 adet SSR markörüyle taranmıştır.

Çizelge 1. Moleküler karakterizasyonda kullanılan SSR primerlerine ait bilgiler.

No	Marker Adı	Marker Dizisi	Marker Adı	Marker Dizisi	Polimorfik Allel Sayısı
1	AB_AM_068_F	ACCCGGTCCAATCTTTTC	AB_AM_068_R	TCGGCTGTATCGTGTTTTC	3
2	AB_AM_069_F	CCCATCTTCAGGAGGATCAA	AB_AM_069_R	CTGGAGGTTCAAGCCATGT	4
3	AB_AM_74_F	CTCGTAGGCCATACCTCG	AB_AM_074_R	CTCCGTAGGCAATGGGTAGA	4
4	AB_AM_077_F	TGCAGAGAGGAGGGAGAGAG	AB_AM_077_R	TGCGAGTCCTGCATATACCA	2
5	AB_AM_087_F	TGCCGGATCTTCATCTCTCT	AB_AM_087_R	GCTTGTGTGTGCTCGTGTGT	3
6	AM_087_F	GAGCAAGCTCTGGATGGAAA	AM_087_R	CCCGTTTATGTGGTTGTTAGC	3
7	AM_102_F	TGGTCAGCAAGCATCACAAT	AM_102_R	TGTGCATGCATCTGTGCTTA	3
8	AB_AM_123_F	TTCAATAAGGCCATAAGCCG	AB_AM_123_R	GCCCAGACTAGGGCATAACA	3
9	AB_AM_130_F	TTTCCTGCTTCTGCTTCTCC	AB_AM_130_R	AACCAGCCGCAGAGTTAAAA	4
10	AB_AM_185_F	GAGGGGAGTAATTTAGGCCG	AB_AM_185_R	CCACTAGGTCCACGTGCATA	4
11	AB_AM_448_F	TGGAAGACAGTAGCAACACTTACC	AB_AM_448_R	TATTTTCGGAGGGAGGGAGT	2
12	AB_AM_453_F	AGTGCTACCATGCAGACCAA	AB_AM_453_R	GTCATGTCGGCTACAAAGCA	4
13	AB_AM_467_F	AAGTCGGTAGAAGATGCGGA	AB_AM_467_R	CGAACCTAGGAAGCCTTGTG	5
14	AB_AM_488_F	ACCAGTGTCGTCAACAACCA	AB_AM_488_R	GATCCGACGGTAAAAGATCG	3
15	AB_AM_493_F	TAAGCATTGCACTTCGTTGC	AB_AM_493_R	TACTGGATGCGAGGTGTGTC	3
16	AB_AM_503_F	TAGCCGCCCTACCAACTATG	AB_AM_503_R	GAGCCGTGTGCAGATCACTA	3
17	AB_AM_692_F	GATGAAACGGTTATGATCTGG	AB_AM_692_R	TTCTTGGCATCGATGGAATC	2
18	AB_AM_709_F	TCCTGCTGCTGCTATTGATG	AB_AM_709_R	AATGCTGCTTGTCCCAATC	3
19	AB_AM_805_F	ATCGGATGGTGATTGAGGAG	AB_AM_805_R	CCTACATGCCGGATCTTCAT	4
20	AB_AM_814_F	ACTAGGGTTCACGTGTTCCGG	AB_AM_814_R	AGTAGTGGTTTTGCGGGATG	2
21	AB_AM_829_F	TTTAGAAAAGGCGATCTCGG	AB_AM_829_R	GGCAACACCCTTAAGTTCCA	5
22	AB_AM_833_F	TGGCATTGCTCTAAGTCACG	AB_AM_833_R	GTGACTTCTGTACGCGGTA	3
23	AB_AM_853_F	TGTGTGTGCTATCTATTGAAGCCT	AB_AM_853_R	CAAACCTTCCGACGACTCC	3
24	AB_AM_854_F	AATGACTAACGCGGAAATGC	AB_AM_854_R	AAGATCCAGTAAAAGCGGG	3
25	AB_AM_858_F	TGGAGTCGCTTATATAATGCGG	AB_AM_858_R	GTGAACATGAAGGGGACGAG	4
26	AB_AM_869_F	GACTGCCGCCACATCTTTAT	AB_AM_869_R	ATGATACAACTCCGAGCCTCA	4
27	AB_AM_874_F	GCCCTGGGTACGGCTATTAC	AB_AM_874_R	GACTGCATGGAGCGTATCCT	5
28	AB_AM_897_F	GTAATCCTGGGATTGCGATG	AB_AM_897_R	TGCTTGTGTGTTGTATGATTGA	3
29	AB_AM_901_F	TACCCGCTCCACCTTGTAAC	AB_AM_901_R	TACCCGCTCCACCTTGTAAC	3
30	AB_AM_905_F	GCTGCTACCTTGTGAAGGC	AB_AM_905_R	TAGGAAGCACCCAATCCAAG	2
31	AB_AM_906_F	GGGCAATTACTCTTTCACCC	AB_AM_906_R	ATCTCCCTTGACCGGCTAGT	3
32	AB_AM_907_F	TGCATGTATTCCCATAGCA	AB_AM_907_R	TCCATAGAATTGCGGGTAG	4
33	AB_AM_909_F	TGGCATCCATACCTGAATCC	AB_AM_909_R	CACCTGGCCGAATCAATAAA	3
34	AB_AM_910_F	GTGCTCTGCTCACCTCACCT	AB_AM_910_R	TTGGCAGTACTTAGCGGTT	3
35	AB_AM_911_F	GTGCTCTGCTCACCTCACCT	AB_AM_911_R	TTGGCAGTACTTAGCGGTT	4
36	AB_AM_914_F	TGCACATTCTAGATCGGAGG	AB_AM_914_R	TGCACGAAAAATCTTCACA	3
37	AB_AM_927_F	GGGACCGGTTAAAACACAAA	AB_AM_927_R	CCATGGAGACCCTACTCCT	3
38	AB_AM_1003_F	CATCTGCGATTTCGAGCTTCT	AB_AM_1003_R	CTTGATTGCGGCGACTAGAGC	2
39	AB_AM_1024_F	AAGGCCGTGGTTTCTAGGAT	AB_AM_1024_R	TTTGACACAACAGGAACCGA	3
40	AB_AM_1055_F	GTACGACCGTTCCACCAAAAC	AB_AM_1055_R	CTTGATGCCCATCATTGCAG	3

Metot

Her hatta ait 4 tohum 10.2 cm çapındaki saksılara ekilmiş ve 2 yapraklı dönemde ekilen bitkilerden üç tanesi saksılardan uzaklaştırılmış ve her saksıdaki genotipi temsil edecek şekilde birer bitki bırakılmıştır. Bu bitkiden alınan yaprak örnekleri 2 ml'lik tüplere konularak DNA izolasyonu gerçekleşinceye kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonunu CTAB metoduna göre ve Oliver ve ark. (2010) protokolü kullanılarak yapılmıştır. Genotiplerden izole edilen DNA'lar nanodrop işleminin yanı sıra test jellerde görüntülenerek DNA'lardan bant elde edilip edilemediği kontrol edilmiştir.

PCR Ürünleri 0.02 ml hacminde 384'lük PCR platelerine; 0.5 µl dNTP karışımı (5 mM karışım (A+T+G+C)), 1 µl 10x buffer, 0.6 µl MgCl₂, SSR primer çifti (2 µl F ve 2 µl R), 2.5 µl (100 ng) genomik DNA, 1.3 µl dH₂O, ve 0.1 µl DNA TAQ polimeraz (5U/µl, Fermantes) gelecek şekilde toplam 10 µl solüsyon hazırlanmıştır.

PCR reaksiyonları Thermo Scientific marka PCR cihazında; 94 °C'de 4 dakika çalıştıktan sonra 94 °C (DNA iplikçiklerinin ayrışması) 30 saniye, 55 °C (primerlerin yapışması her bir marker için bu sıcaklık farklılık göstermiştir (tavlama)) 45 saniye ve 72 °C (DNA eşleşmesi)'de 1 dakika çalışarak, 94°C ile 72°C

arasında 40 döngü yapmış ve son aşamada 72 °C'de 10 dakika çalıştırılarak tamamlanmıştır. Bitirilen PCR ürünleri kullanıma kadar -20 °C bekletilmiştir. Elektroforez işlemleri % 3'lük agaroz jelde yürütülmüştür. PCR ürünlerine 10 µl yükleme boyası eklenerek toplam ürün 20 µl olmuştur. Elektroforez tankının içine yerleştirilen jeller üzerindeki yükleme kuyularına 10 µl PCR ürünü yüklenmiş ve 180 volt elektrik akımında yaklaşık 1.5 saat (PCR ürünlerinin jellerdeki göçleri takip edilmiştir) yürütülmüştür. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel etidium bromide solusyonuna (100 ml 1xTBE için 20 µl etidium bromide eklenmiş) 20 dakika çalkalanarak boyanmıştır. Son olarak UV altında görüntülenerek resimlenen jellere ait bant uzunlukları 100 bp'lik ladder ile karşılaştırılarak skorlanmıştır.

Yulaf genotiplerinin genetik benzerlikleri NTSYSpc 2.20 (Rohlf, 2005) programında Dice indeks (Dice, 1945) kullanılarak hesaplanmıştır. Her bir genotipe ait DNA bantları '0' veya '1' şeklinde kodlanarak ikili (binary) veri matrisi oluşturulmuş ve bu matrisin yardımıyla da UPGMA (unweighted pairgroup method arithmetic average) metodu kullanılarak, genotiplerin birbiriyle benzerliklerini gösteren dendrogram oluşturulmuştur (Aslan, 2015).

BULGULAR ve TARTIŞMA

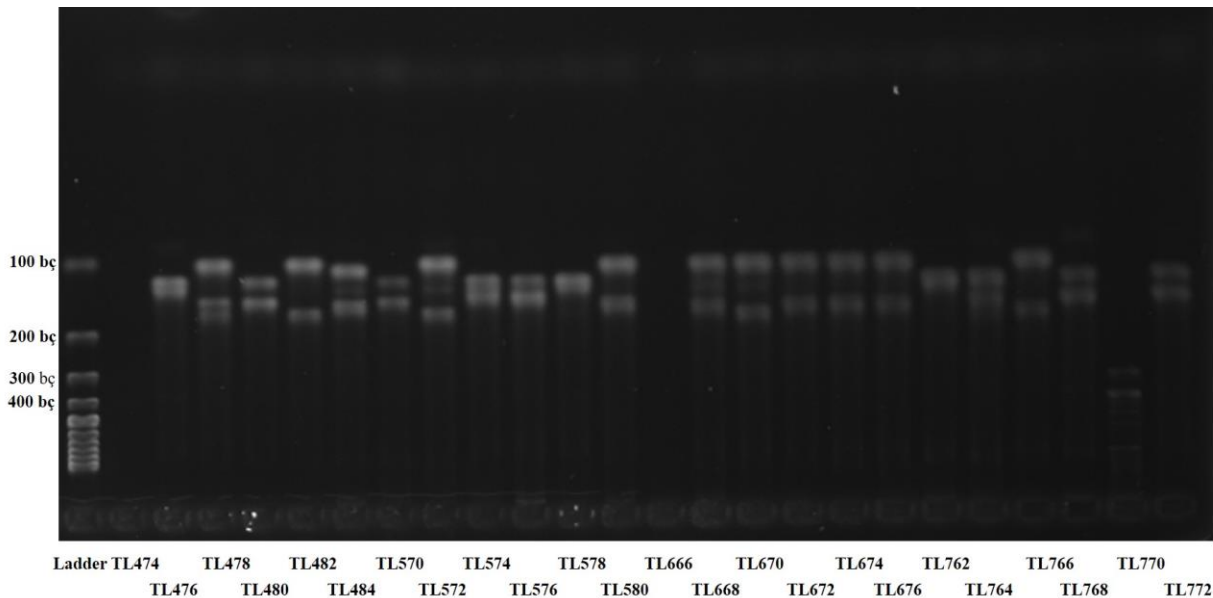
Moleküler karakterizasyona ait verilerden 384 yerel yulaf genotipinin tarandığı SSR primerlerinden birisi olan AB_AM_467 ile elde edilen bantlar Şekil 1'de, araştırmada kullanılan SSR primerlerine ait allel sayıları da Şekil 2'te gösterilmiştir.

Kullanılan 40 adet SSR primeri ile 384 adet farklı yulaf genotipi arasındaki genetik farklılıklar bulunmuştur. Yapılan çalışmada sadece AB_AM_910 primeri TL750 çeşidine ait DNA'yı amplifiye edebilmiş diğer primerler bu genotip üzerinde çalışmadığından

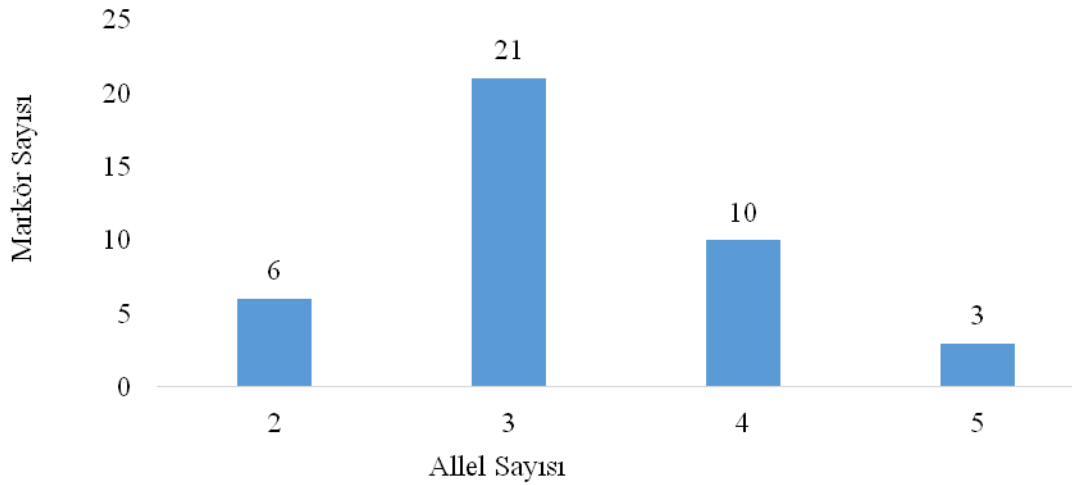
TL750 genotipinden yeterli veri elde edilememiştir. Elde edilen sonuçlar genotipler arasındaki farklılıkları ve benzerlikleri filogenetik ağaçta olduğu gibi ortaya çıkarmış (Aslan, 2015) ve toplamda 40 adet primerden 130 adet polimorfik allel sayısına ulaşılmıştır (Şekil 3).

Yerel yulaf genotiplerinin SSR markörleriyle genotiplenmesi sonucu elde edilen dendograma göre ülkemiz genetik kaynaklarından olan yerel yulaf türleri oldukça geniş bir varyasyon göstermişlerdir. Elde edilen moleküler veriler kullanılarak oluşturulan dendograma göre TL462 ve TL464'ün araştırmada kullanılan 40 SSR ve 130 allel bakımından birbirine % 100 benzer bulunmuştur. Bu duplikasyonların önlenmesi bakımından oldukça önemli bir sonuçtur. Diğer önemli bir sonuç ise birbirine genetik olarak uzak genotiplerin belirlenmesidir. Örneğin, TL389-TL441, TL393-TL430 ve TL397-TL610 kombinasyonları genetik olarak birbirlerine en az benzeyen genotiplerdir. Bu genotipler hem kendi ıslah programımız hem de diğer yulaf araştırmacılarının ıslah programlarında kullanılması bakımından oldukça önemlidir. Araştırmada kullanılan SSR primerlerinden AB_AM_467, AB_AM_829 ve AB_AM_874 primerleri 5 allel ile en çok bant elde edilen primerler olurken, AB_AM_448, AB_AM_77, AB_AM_692, AB_AM_814, AB_AM_905 ve AB_AM_1003 primerleri ise 2 allel ile en az bant elde edilen primerler olmuşlardır. Araştırmada kullanılan primerlerin büyük çoğunluğu ise 3 ila 4 allele sahip olmuşlardır (Şekil 2).

Şekil 2'den de görüleceği gibi SSR markörleri oldukça polimorfik bulunmuştur. En fazla allel sayısı 5 olurken SSR markörlerinin genel olarak 3 veya 4 allele sahip oldukları görülmektedir. Dumlupınar ve ark.(2016b) yaptıkları çalışmada, SSR markörlerinin benzer polimorfizmi gösterdiklerini bildirmişlerdir.



Şekil 1 Çalışmada kullanılan yulaf genotiplerinin AB_AM_467 SSR markörüyle taranması sonucu oluşan bantlar.

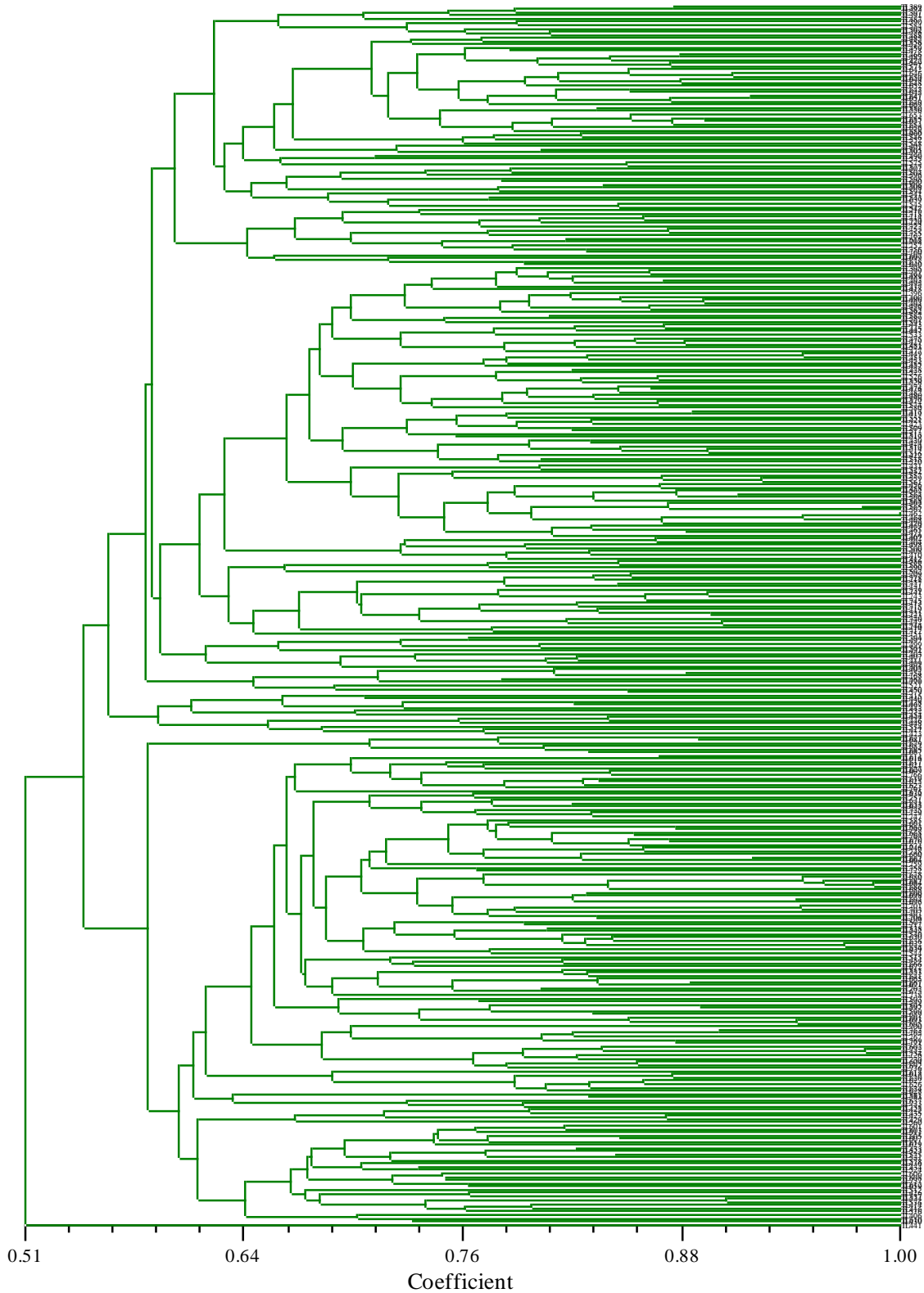


Şekil 2 SSR markörlerine ait polimorfik allel sayıları.

AM_102 mikrosatelitinde 220, 240 ve 260 bç uzunluğunda bantlar görülmüştür. Oluşan bantlar 3 allelin üzerinde çıkmıştır. AB_AM_68 primerinde 210, 220 ve 230 bç uzunluklarında 384 adet genotipe 3 farklı alleli ortaya çıkarmıştır. AB_AM_69 primerinde 170, 180, 190 ve 210 bç uzunluklarında bant göstermiş olup çeşitler arasında 4 adet allel ortaya çıkarmıştır. AB_AM_74 primeri 280, 300, 320 ve 350 bç uzunluklarında bantlara sahip olmuştur. AB_AM_077 primeri 290 ve 310 bç uzunluklarında 2 adet allel ile en az verimlilik gösteren primerlerden biri olmuştur. AB_AM_087 primerinde 3 adet allel ve 140, 160, 180 bç uzunluklarında bant elde edilmiştir. AB_AM_87 primerinde ise 160, 180 ve 200 bç uzunluklarında 3 adet allel tespit edilmiştir. AB_AM_123 primerinde 180, 200 ve 220 bç uzunluğunda 3 adet allel ile genotipler arasındaki benzerlikler bulunmuştur. AB_AM_130 primerinde 230, 250, 280 ve 300 bç uzunluklarında 4 allel ile 384 yulaf genotipinde farklılıkları ortaya koymuştur. AB_AM_185 primeri 140, 160, 180 ve 200 bç uzunluklarında 4 allel oluşturmuştur. AB_AM_448 primerinde 2 adet allel 170 ve 190 bç uzunluklarında meydana gelmiştir. AB_AM_453 primerinde 140, 160, 180 ve 200 bç uzunluklarında 4 allel meydana gelmiştir. AB_AM_467 primeri 100, 120, 140 160 ve 180 bç uzunluklarında 5 allel ile en çok allel gösteren 3 markörden biri olmuştur. AB_AM_488 primeri 220, 250 ve 280 bç uzunluklarında 3 allel genotipler arasındaki polimorfizmi ortaya çıkarmıştır.

AB_AM_493 primerinde 3 allel, 180, 200 ve 220 bç uzunluklarında bantlar oluşturmuştur. AB_AM_503 primerinde 230, 260 ve 290 bç uzunluklarında bantlar göstermiştir. 3 allele bağlanan bu primer genotipler arasındaki ayırıcı özelliğini ortaya koymuştur. AB_AM_692 primerinde ise 170 ve 180 bç uzunluklarında 2 allel oluşmuştur. AB_AM_709 primerinde 240, 260 ve 280 bç uzunluklarında genotipler

arasında 3 allele bağlanmıştır. AB_AM_805 primeri 250, 270, 290 ve 310 bç uzunluklarında bantlar göstermiştir. 4 allele bağlanmıştır. AB_AM_814 primeri 160 ve 180 bç uzunluklarında 384 yulaf genotipinde 2 adet allel içerisinde bantlar oluşturmuştur. AB_AM_833 primerinde ise 180, 200 ve 220 bç uzunluklarında bant göstermiş ve 3 allele bağlanmıştır. AB_AM_858 primeri toplamda 4 allel de bant göstermiştir. Oluşan bantlar sırasıyla 160, 180, 210 ve 240 bç'dir. AB_AM_869 primeri 4 adet allel oluşturmuş ve bu alleller 220, 270, 320 ve 350 bç uzunluklarında meydana gelmiştir. AB_AM_874 primeri 5 allele bağlanarak en çok allel gösteren 3 primerden biri olmuş ve 140, 160, 180, 200 ve 220 bç uzunluklarında bant üretmiştir. AB_AM_897 primerinde bantlar 260, 290 ve 320 bç uzunluklarında ve 3 allelde meydana gelmiştir. AB_AM_905 primerinden oluşan 2 adet allelde, 190 ve 210 bç uzunluklarında bantlar ortaya çıkarmıştır. AB_AM_906 primeri 3 allele bağlanmış ve 260, 290, 320 bç uzunluklarında bant göstermiştir. AB_AM_907 primerinde 260, 280, 300 ve 310 bç uzunluklarında bantlar görülmüştür. AB_AM_909 primeri 300, 330 ve 360 bç uzunluklarında bantlar oluşturmuştur. AB_AM_910 primeri TL750 genotipinde bant gösteren tek primer olmuştur. 384 çeşit yulaf genomunun tümüne bağlanan bu primer 290, 310 ve 330 bç uzunluklarında 3 allel içerisinde bantlar göstermiştir. AB_AM_911 numaralı primer 240, 270, 300 ve 330 bç uzunluklarında bant göstermiştir. Bu primerin bağlandığı allel sayısı ise 4'tür. AB_AM_914 primerinde 280, 300 ve 310 bç uzunluklarında, bağlanan 3 adet allel gözlemlenmiştir. AB_AM_915 primerinde toplamda 3 allel 200, 220 ve 260 bç uzunluklarında bant ortaya çıkmıştır. AB_AM_927 primerinde 190, 210 ve 230 bç uzunluklarında 3 allel içerisinde bant olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3 Üç yüz seksen üç yulaf genotipinde SSR markör verileri kullanılarak elde edilen dendrogram

AB_AM_1003 primerinde 80 ve 90 bp uzunluklarında 2 adet allel oluşmuştur. Elde edilen verilere göre oluşturulan dendrogram yulaf genotipleri arasında oldukça geniş bir varyasyon tespit etmiştir. Türkiye orijinli yulaf çeşitlerinin genetik çeşitliliğine ait yapılan önceki çalışmalarda, genetik çeşitliliğin çok

geniş olduğu, ülkemizin farklı bölgelerine dağılmış bir varyasyon olduğu bildirilmiştir (Dumlupınar ve ark., 2016b). Yine başka bir çalışmada Montilla-Bason ve ark. (2013) Avrupa kökenli, yerel çeşitleri de içeren 177 yulaf genotipinde oldukça önemli varyasyonlar bildirmiştir. Bununla birlikte, yerel yulaflarda yüksek

varyasyon olduğunu bildiren daha önceki çalışmalarla da bulgularımız uyum içerisinde (O'Donoghue ve ark., 1994; Fu ve ark., 2005; Newell ve ark., 2011; Oliver ve ark., 2011 ve Boczkowska ve Tarczyk, 2013).

SONUÇ

Ülkemiz genetik kaynaklarından olan yerel yulaf lar oldukça geniş bir varyasyon göstermişlerdir. Elde edilen bantlar kullanılarak oluşturulan dendograma bakıldığında yerel yulaf çeşitlerinin temelde % 51'lik bir benzerlikleri olduğu da görülmektedir. Moleküler analizlerin önemli sonuçlarından bir tanesi de TL462 ve TL464'ün araştırmada kullanılan 40 SSR ve 130 allel bakımından birbirine % 100 benzer bulunmasıdır. SSR markörleri yulaf genotipleri arasındaki farklılıkları bulmada başarılı sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir. Araştırma sonucunda Türkiye orijinli yerel yulaf çeşitleri yurtdışından getirilerek, tarımsal ve morfolojik olarak karakterize edilmiş ve ulusal gen bankamıza kazandırılmıştır. Bu sayede, ülkemizin genetik kaynağı olan bu yulaf genotipleri ülkemizdeki bilim insanlarının da kullanımına açılmıştır. Tek bitkiden çoğaltılarak saf bir şekilde gen bankamıza kazandırılan yulaf genotipleri popülasyon değil artık birer hatır. İslah programlarında melez kombinasyonlarının oluşturulmasında genetik olarak birbirine en uzak hatların seçilmesi veya tarımsal özellikleri bilinen hatların istenilen özelliklere göre melezlenmesi ıslah hedeflerinin başarılmasında yardımcı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje Numarası: 112O138) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Aslan E 2015. Farklı Gen Bankalarından Elde Edilen Yulaf Hatlarının SSR (Basit Dizi Tekrarları) Markörleriyle Karakterizasyonu. KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı 52s.
Bennett P 2000. Microsatellites. Journal of Clinical Pathology, Molecular Pathology, 53: 177-183.
Boczkowska M, Tarczyk E 2013. Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L.). Genet Resour Crop Ev 60: 2157-2169.
Dice LR 1945. Measures of the Amount of Ecologic Association between Species. Ecology, 26: 297-302.
Dumlupınar Z 2010. Türkiye Orijinli Yerel Yulaf Genotiplerinin Avenin Proteinleri ile Morfolojik, Fenolojik ve Agronomik Özellikler Yönünden Karakterizasyonu. KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 112 s.
Dumlupınar Z, Brown R, Campbell R, Jellen EN, Anderson J, Bonman JM, Carson M, Chao S, Obert D, Jackson E 2016a. The Art of Attrition: Development of Robust Oat Microsatellites. Plant Breeding. doi: 10.1111/pbr.12362

Dumlupınar Z, Jellen EN, Bonman M, Jackson EW 2016b. Genetic Diversity and Crown Rust Resistance of Oat Landraces from Various Locations throughout Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, Doi: 10.3906/tar-1509-43
Ellegren H, Moore S, Robinson N, Byrne K, Ward W, Sheldon BC 1997. Microsatellite evolution-a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. Molecular Biology and Evolution, 14(8): 854-860.
Fu YB, Peterson GW, Williams D, Richards KW, Fetch JM 2005. Patterns of AFLP variation in a core subset of cultivated hexaploid oat germplasm. Theor Appl Genet 111: 530-539.
Hoffmann LA 1995. World Production and Use of Oats. "Alınmıştır The Oat Crop-Production and Utilization (ed) Welch, R.W., Chapman and Hall, London, UK, 34-61.
Kün E 1988. Serin İklim Tahılları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1032. Ders Kitabı No: 299, Ankara, 216 s.
Liu BH 1997. Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press LLC, Boca Raton New York, USA, 648 s.
Montilla-Bascon G, Sanchez-Martin J, Rispaill N, Rubiales D, Mur L, Langdon T, Griffiths I, Howarth C, Prats E 2013. Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. Plant Mol Biol Rep 31: 1305-1314.
Newell M A, Cook D, Tinker NA, Jannink JL 2011. Population structure and linkage disequilibrium in oat (*Avena sativa* L.): implications for genome-wide association studies. Theor Appl Genet 122: 623-632.
O'Donoghue LS, Souza E, Tanksley SD, Sorrells ME 1994. Relationships among North-American oat cultivars based on restriction-fragment-length-polymorphisms. Crop Sci 34: 1251-1258.
Oliver RE, Obert DE, Hu G, Bonman JM, O'Leary-Jepsen E, Jackson EW 2010. Development of oat-based markers from barley and wheat microsatellites. Genome, 53(6): 458-471.
Oliver RE, Lazo GR, Lutz JD, Rubenfield MJ, Tinker NA, Anderson JM, Wisniewski Morehead NH, Adhikary D, Jellen EN, Maughan PJ, ..., Guedira GLB 2011. Model SNP development for complex genomes based on hexaploid oat using high-throughput 454 sequencing technology. BMC Genomics 12: 77.
Peterson DM, Wesenberg DM, Burrup DE, Erickson CA 2005. Relationships among agronomic traits and grain composition in oat genotypes grown in different environments. Crop Science, 45: 1249-1255.
Rohlf FJ 2005. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.2. Setauket, Exeter Publishing, New York, USA.
Weber JL, May PE 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. American Journal Human Genetics. 44: 388-396.