

## Antalya doğal florasından toplanan düğmeli yoncanın (*Medicago orbicularis* L.) moleküler karakterizasyonu

Cengiz ERDURMUŞ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Antalya

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: cengiz.erdurmus@tarimorman.gov.tr

ORCID:0000-0002-2185-9901

Makale Bilgisi/Article Info  
Derim, 2018/35(2):186-193  
doi: 10.16882/derim.2018.406434

Araştırma Makalesi/Research Article  
Geliş Tarihi/Received: 15.03.2018  
Kabul Tarihi/Accepted: 16.08.2018



### Öz

Bu çalışma, Antalya doğal florasından toplanan ve özellikle mera alanları için önem teşkil eden tek yıllık yonca türlerinden Düğmeli yonca (*Medicago orbicularis* L.)'nin moleküler karakterizasyonunu yapmak amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada 45 adet düğmeli yonca genotipi arasındaki genetik çeşitlilik mikrosatellite (SSR) markırları kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan ön çalışmada, toplam 35 adet mikrosatellite primer çifti kullanılmıştır. Yapılan ikinci çalışmada ise 15 adet mikrosatellite primer çifti kullanılmıştır. Araştırmada genetik benzerlik katsayıları 0.75-1.00 değerleri arasında bulunmuştur. En yakın genetik benzerlik 3-4-5 ve 42 nolu genotipler; 37 ve 38 nolu genotipler; 32 ve 31 nolu genotipler; 25 ve 26 nolu genotipler; 7-9-16-18-22 ve 33 nolu genotipler; 40 ve 11 nolu genotipler; 29 ve 30 nolu genotipler; 13-14 nolu genotipler ile 6-10-12-15-17-19-20-21-23-24-28-3443-44 ve 45 nolu genotipler arasında belirlenmiştir. En uzak benzerlik ise 2 nolu genotip ile 25 ve 26 nolu genotipler arasında belirlenmiştir. UPGMA yöntemine göre yapılan dendogramda genotipler 0.87 benzerlik seviyesinde 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci ana grupta 12, ikinci ana grupta 33 genotip yer almıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Düğmeli yonca; Antalya; Doğal flora; Moleküler karakterizasyon

### Molecular characterization of button medic (*Medicago orbicularis* L.) collected from Antalya natural flora

#### Abstract

This study was carried out to determine molecular characterization of annual button medic (*Medicago orbicularis* L.), which is very important for the pasture areas, collected from natural flora of Antalya province. Totally, the genetic diversity of 45 button medic genotypes were characterized with microsatellite (SSR) markers. A total of 35 microsatellite primer pairs were used in the preliminary study. In the second study, 15 pairs of microsatellite primers were used. Genetic similarity coefficients of the genotypes changed between 0.75 and 1.00. The closest genetic similarities were determined between genotypes 3-4-5 and 42; genotypes 37 and 38; 32 and 31 genotypes; genotypes 25 and 26; genotypes 7-9-16-18-22 and 33; genotypes 40 and 11; 29 and 30 genotypes; 13-14 genotypes and 6-10-12-15-17-19-20-21-23-24-28-3443-44 and 45 genotypes. The farthest similarity was determined between genotypes 2 and 25 and 26 genotypes. According to the UPGMA method, the genotypes in the dendogram were divided into two main groups at the level of similarity of 0.87. There were 12 genotypes in the first main group and 33 genotypes in the second main group.

**Keywords:** Button medic; Antalya, Natural flora; Molecular characterization

### 1. Giriş

Ülkemizde mevcut durumda çayır ve mera varlığının 12.3 milyon ha olduğu kabul edilmektedir. Meralarımızdaki kuru ot verimi 400-1100 kg ha<sup>-1</sup> arasında değişmekte olup, meraların çoğunda kuru ot verimi 600 kg ha<sup>-1</sup> altındadır (Sayar vd., 2015). Meralarımızda birim alandan elde edilen kuru ot veriminin düşük olduğunu gösteren bu veriler, ıslah çalışmalarıyla meralarımızın ot verimlerini arttırmamız gerektiğini işaret etmektedir. Akdeniz havzasında yaygın olarak bulunan tek yıllık yoncalar, yüksek adaptasyon kabiliyetleri,

rekabet etme yetenekleri, hızlı gelişmeleri ve besin değerleri dikkate alındığında meralarımızın ıslahında kullanılabilecek önemli yem bitkisi türlerindedir. Ülkemiz meralarının nitelik ve nicelik olarak yetersizliği ve nadas alanları dikkate alındığında, tek yıllık yoncaların kaba yem üretiminde büyük bir potansiyele sahip olduğu anlaşılmaktadır. Buna karşın, ülkemizde tek yıllık yonca türlerinde çalışmalar çok sınırlı olup, ülkemizde henüz tek yıllık bir yonca çeşidi geliştirilememiştir. Çalışmamızın konusunu teşkil eden *Medicago orbicularis* L. türü ülkemiz doğal florasında yaygın olarak bulunan ve kaliteli ot üretme potansiyeli olan

yatık gelişen tek yıllık bir yonca türüdür (Sayar, 2011; Sayar vd., 2015; Alınca, 2018). Genelde dünyada çok yıllık bitkiler kullanılmasına rağmen, yaz döneminde sınırlı yağış alan meralarda tek yıllık yoncalar çok yıllıklara göre daha umut verici olduğu belirtilmiştir (Ocumpaugh vd., 1998). Ot üretimi açısından tek yıllık yoncaların önem kazandığı yerler ile ülkemizin ekolojik şartları büyük oranda benzemektedir. Ülkemizdeki meraların ıslah edilmesinde tek yıllık yoncalar büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Doğal floradan toplanan genotiplerden elde edilen çeşitler, çayır-meralarımızın nitelik ve nicelik yönünden geliştirilmesinde, yurt dışından getirilen yabancı materyallere göre daha avantajlı olacaktır. Bu nedenle, öncelikle doğal floramızda yaygın olarak bulunan tek yıllık yonca türlerine ait genotiplerin toplanarak, yapılacak ıslah çalışmasıyla mera alanlarımızda kullanılacak çeşitler geliştirilmesi gerekmektedir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonu, temel olarak popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların ve popülasyonlardaki genetik varyasyonun miktarı ve dağılımının ortaya konması amacıyla yapılır. Moleküler işaretleyici teknikleri, bitkiden alınacak çok az miktarda dokudan elde edilen DNA ile bütün bir genomun analizini mümkün kılması, genellikle yetiştirme koşullarının işaretleyicinin ifadesini etkilememesi gibi birçok üstünlükleriyle, son yıllarda germplasm karakterizasyonunda yoğun olarak kullanılmaktadır. Böylece bitki genetik kaynakları daha doğru ve kesin bir şekilde karakterize edilmeye başlanmıştır. Ancak bu işaretleyici sistemlerinin morfolojik işaretleyicilere alternatif değil, onların tamamlayıcısı olarak ele alınması daha bütünsel bir yaklaşım olacaktır (Tan, 1992).

Antalya doğal florası, tek yıllık yonca türleri açısından zengindir. Bu alanlarda bulunan tek yıllık yonca türlerinin toplanması ve moleküler karakterizasyonunun yapılması yem bitkileri tarımının çeşitlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Düğümeli yonca; Ülkemizde ve özellikle Akdeniz Bölgesinde geniş yayılış alanı göstermesi, vejetasyon süresinin uzun olması, mera alanlarının ıslahında kullanılma potansiyelinin olması vb. özelliklerinden dolayı çalışmanın materyali olarak seçilmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Bu çalışmada Antalya doğal florasından 45 adet düğümeli yonca (*Medicago orbicularis* L.) genotipi toplanmış ve bu çalışmanın materyali olarak kullanılmıştır.

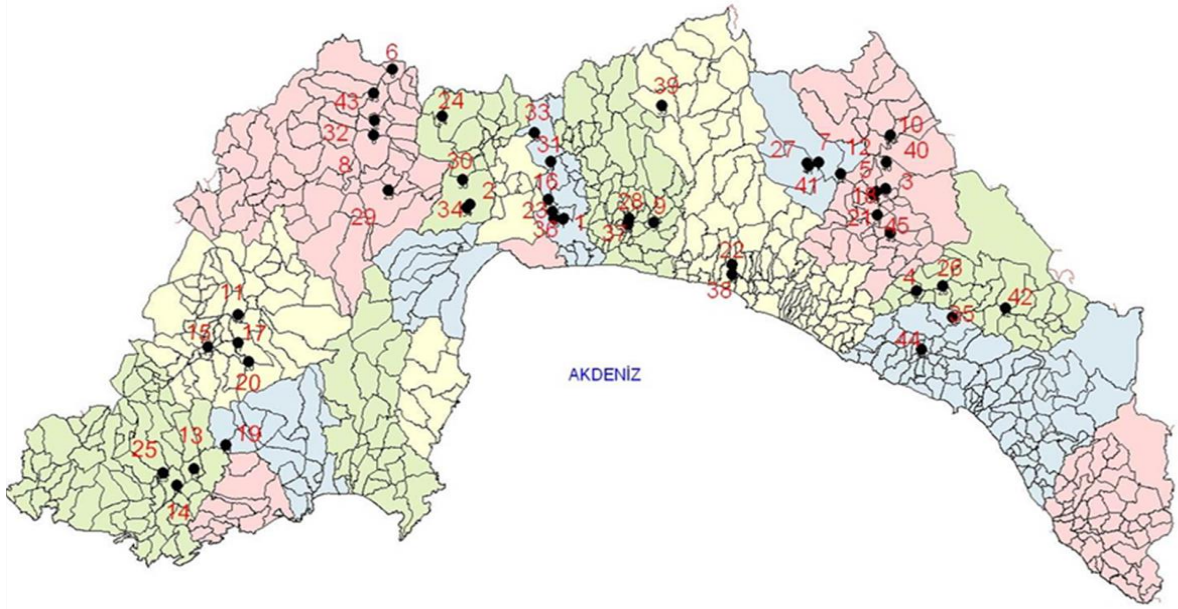
### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1. Survey çalışmaları

Davis (1970)'de belirtilen düğümeli yonca genotiplerinin bulunduğu lokasyonlara survey çalışması yapılmıştır. Yapılan survey çalışmaları sonunda türün bulunduğu bölgelerin lokal olarak tespiti yapılarak, GPS (yükseklik ve koordinatlar) değerleri belirlenmiştir. Genotiplerin koordinatları harita üzerine işaretlenmiş ve Şekil 1'de verilmiştir.

#### 2.2.2. Moleküler çalışmalar

Bitkilerin DNA'ları CTAB protokolüne Doyle ve Doyle (1990)'a göre elde edilmiştir. Her örnek için yaklaşık 0.2 g taze yaprak kullanılmış, örnekler içerisine 0.5 ml ekstraksiyon çözeltisi [1.4 M of NaCl, 20 mM of EDTA, 100 mM of Tris-HCL (pH 8), 2% CTAB ve 1.2 µl of beta-mercaptoethanol konulan ependorf tüpünde ezilmiştir. Elde edilen karışım 65°C'de 30 dakika sıcak su banyosunda inkube edildikten sonra, 0.5 mL kloroform-izoamil alkol (24:1) ilave edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen supernatant (üst sıvı) 2/3 hacim izopropanol ile -20°C'de 2 saat bekletilmiştir. Santrifüjde 5 dakika 13000 rpm de pelet elde edilmiş ve %76 ethanol ve 10 mM amonyum asetat içeren 0.75 mL yıkama sıvısı ile iki kez yıkanmıştır. DNA'lar steril TE tamponunda çözülmüş ve lamda DNA kontrolü kullanılarak ve etidyum bromide ile boyanarak, %4'lük agaroz jelde konsantrasyonları yaklaşık olarak tespit edilmiştir. SSR primerleri; Flajoulot vd. (2005) ve Diwan vd. (2000) ve tarafından belirlenmiş olan listede görülen 35 primer ile ön çalışma yapılmıştır. Daha sonra polimorfizm elde edilen 15 primer ile çalışma yürütülmüştür. Çalışmamızda kullandığımız primerler, FMT13, MTIC451, MTIC189, MAA660456, B14B03, MTIC93, MTIC432, MTIC299, AFat15, AFca1, AFctt1, AFct45, AFca16, AFct60, AFca11'dir. Çizelge 1'de primer listesi ve baz dizileri gösterilmiştir.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan düğmeli yonca genotiplerin toplandığı lokasyonların koordinatları

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin adı, Forward-Reverse baz dizilimi ve alınan kaynak listesi

Primerin Adı	Forward	Reverse	Kaynaklar
FMT13	GATGAGAAAATGAAAAGAAC	CAAAAACCTCACTCTAACACAC	
MTIC451	GGACAAAATTGGAAGAAAAA	AATTACGTTTGTGGATGC	
MTIC189	CAAACCCTTTTCAATTTCAACC	ATGTTGGTGGATCCTTCTGC	
MAA660456	GGGTTTTTGATCCAGATCTTAA	GGTGGTCATACGAGCTCC	Flajoulot vd., (2005)
B14B03	GCTTGTCTTCTTCAAGCTCAC	CTGACTTGTGTTTTATGC	
MTIC93	AGCAGGATTTGGGACAGTTGT	ACCGTAGCTCCCTTTTCCA	
MTIC432	TGGAATTTGGGATATAGGAAG	GCCATAAGAACTTCCACTT	
MTIC299	AGGCTGTTGTTACACCTTTGTC	AAATGCTTAAATGACAAAT	
Afat15	TTACGGGTCTAGATTAGAGAGTATAG	CAAAATGAGTATAGGGAGTGG	
Afca1	CGTATCAATATCGGGCAG	TGTTATCAGAGAGAGAAAGCG	
AFctt1	CCCATCATCAACATTTTCA	TTGTGGATTGGAACGAGT	
Afct45	TAAAAACGGAAAGAGTTGGTTAG	GCCATCTTTCTTTTGCTTC	Diwan vd., (2000)
Afca16	GGTCGAACCAAGCATGT	TAAAAACATTACATGACCTCAA	
Afct60	CCTCCCTAACTTTCCAACA	TGGATCAACGTGTCTTTCA	
Afca11	CTTGAGGGAACATTGTTGAGT	AACGTTTCCCAAACATACTT	

Bütün polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) 10 µL hacimde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyon koşulları, [Barkley vd. \(2006\)](#)'nın yapmış oldukları çalışma esas alınarak belirlenmiştir. Kullandığımız reaksiyon koşulu; 2.0 µL DNA (20 ng DNA), 1.6 µL dNTP (0.1 mM dNTPs), 1.2 µL MgCl<sub>2</sub> (2.5 mM MgCl<sub>2</sub>), 0.1 µL Taq (0.6 U Taq DNA polimeraz), 0.8 µL her bir primer çifti (0.15 µM her bir primer), 1.0 µL (10X) PZR tamponu ve 11.5 µL ddH<sub>2</sub>O şeklinde olmuştur. PZR termal döngü programları da [Barkley vd. \(2006\)](#)'nın yapmış oldukları çalışma esas

alınarak belirlenmiştir. PCR protokolü, 1 döngü 94°C'de 3 dk, ardından 35 döngü olacak şekilde, 94°C'de 30 sn, 50°C'de 30 sn, 72°C'de 1 dk ve son olarak da 1 döngü 72°C'de 10 dk şeklindedir. PZR ürünleri % 4'lük yüksek çözünürlük agaroz jellerde ayrıştırılmış ve 50 bp DNA büyüklük markırı kullanılmıştır. Jellerde bulunan PZR ürünleri ethidium bromide ile boyanarak Kodak GelLogic 200 sistemi ile görüntülenmiş ve dijital olarak kayıt altına alınmıştır. Çalışmada elde edilen ve dijital olarak kayıt altına alınmış her bir jel görüntüsü

kodominant mikrosatellite skorlama sistemi ile allelik boyutlar ve dominant skorlama sistemi ile de bant varlığı (1), yokluğu durumları (0) verilerek skor edilmiştir. Dominant markır sistemi ile elde edilen veriler MVSP programı kullanılarak UPGMA analizi gerçekleştirilmiştir.

### 3. Bulgular ve Tartışma

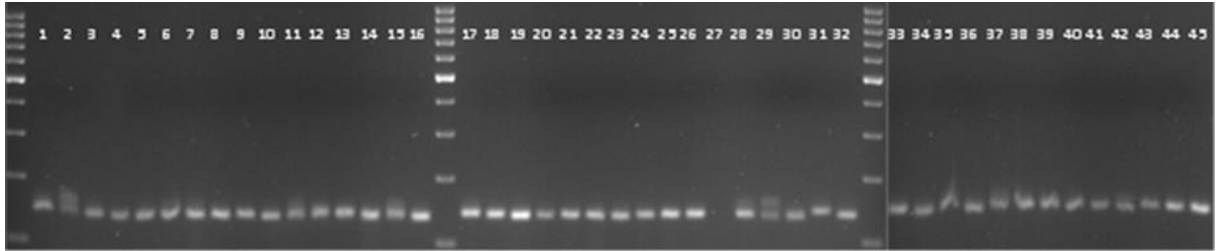
Çalışmada 45 adet düğmeli yonca genotipi arasındaki genetik çeşitlilik mikrosatellite (SSR) markırları kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan ön çalışmada, toplam 35 adet mikrosatellite primer çifti kullanılmıştır. Polimorfizm sağlayan 15 adet mikrosatellite primer çifti ile genotipler arasındaki farklılıklar araştırılmıştır (Çizelge 2).

Çalışmada kullanılan bazı primerlere ait jel resimleri Şekil 2 ve 3'te verilmiştir. Yüksek çözünürlüklü agaroz jelde yürütülerek görüntülenen PZR amplikasyonları var (1) ve yok (0) olarak skorlanmış ve ikili veri matrisi oluşturulmuştur. Benzer hareketliliği gösteren ve aynı büyüklükteki bantlar homolog olarak değerlendirilmiştir. Nei & Li'nin genetik benzerlik indeksi formülü:

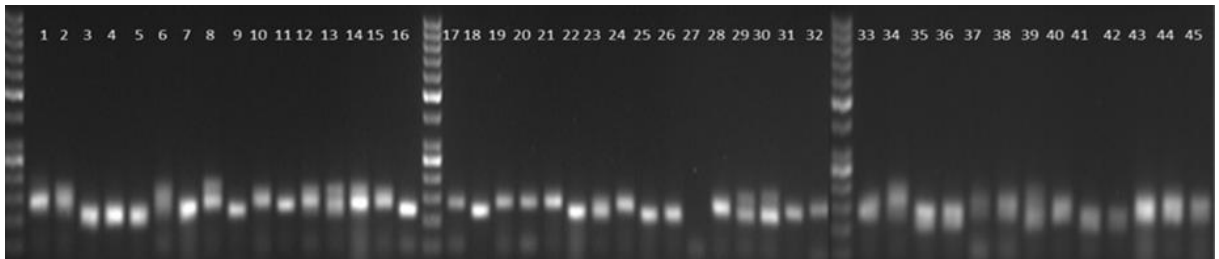
$NL_{cij} = 2a / (a + b) + (a + c)$  kullanılarak hesaplanmıştır. Formülde i ve j; örnekleri, a; i ve j örnekleri arasında ortak markır sayısını, b; i örneğinde olan fakat j örneğinde olmayan ve c ise i örneğinde olmayan fakat j örneğinde olan fragmentlerin sayısını ifade etmektedir.

Çizelge 2. Primerlerden elde edilen allel sayısı (adet) ve polimorfizm sağlayan bant büyüklüğü (bp)

Primerin adı	Allel sayısı (adet)	Polimorfizm sağlayan bant (bp)
FMT13	2	170, 180
MTIC451	2	60, 125
MTIC189	4	100, 120, 150, 180
MAA660456	-	-
B14B03	1	170
AFat15	2	160, 250
AFctt1	1	120
AFct45	3	150, 170, 180
AFca16	1	125
AFct60	-	-
AFca11	-	-
MTIC432	1	150
MTIC93	-	-
MTIC299	-	-
AFca1	-	-



Şekil 2. AFct 45 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 3. MTIC 189 primerine ait jel görüntüsü

Nei & Li matrisi temelinde konumsal işaret ve UPGMA dendogramı MVSP software 3.13 versiyonunu kullanarak örnekler arasındaki ilişkileri göstermek için kullanılmıştır.

Kırk beş adet düğmeli yonca genotipinden elde edilen genetik benzerlik değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Görüleceği üzere genetik benzerlik katsayıları 0.75-1.00 değerleri arasında bulunmuştur. En yakın genetik benzerlik 3-4-5 ve 42 nolu genotipler; 37 ve 38 nolu genotipler; 32 ve 31 nolu genotipler; 25 ve 26 nolu genotipler; 7-9-16-18-22 ve 33 nolu genotipler; 40 ve 11 nolu genotipler; 29 ve 30 nolu genotipler; 13-14 nolu genotipler ile 6-10-12-15-17-19-20-21-23-24-28-3443-44 ve 45 nolu genotipler arasında belirlenmiştir. En uzak benzerlik ise 2 nolu genotip ile 25 ve 26 nolu genotipler arasında belirlenmiştir. UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean) yöntemine göre yapılan dendogram Şekil 4'de verilmiştir. Dendogramın incelenmesinden de anlaşılacağı üzere incelenen düğmeli yonca genotipleri 0.87 benzerlik seviyesinde 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci ana grubu 7, 9, 16, 18, 22, 25, 26, 31, 32, 33, 37 ve 38 nolu genotipler oluşturmuştur. Birinci ana grup 0.90 benzerlik seviyesinde 2 alt gruba ayrılmıştır. I. alt grubu 37 ve 38 nolu genotipler oluşturmuştur. II. alt grubu ise 7, 9, 16, 18, 22, 25, 26, 31, 32 ve 33 nolu genotipler oluşturmuştur. İlk ana grupta 37 ve 38, 31 ve 32, 25 ve 26 ile 7, 9, 16, 18, 22 ve 33 nolu genotiplerin benzer olduğu tespit edilmiştir. İkinci ana grubu ise 1, 2, 6, 10,12, 15, 17, 19, 20, 21, 23, 24, 28, 34, 43, 44, 45, 8, 13, 14, 29, 30, 3, 4, 5, 42, 11, 40, 35, 36 ve 41 nolu genotipler oluşturmuştur. İkinci ana grup 0.89 benzerlik seviyesinde 2 alt gruba ayrılmıştır. I. alt grubu 3, 4, 5, 42, 11, 40, 35, 36 ve 41 nolu genotipler oluşturmuştur. II. alt grubu ise 1, 2, 6, 10,12, 15, 17, 19, 20, 21, 23, 24, 28, 34, 43, 44, 45, 8, 13, 14, 29 ve 30 nolu genotipler oluşturmuşlardır. İkinci ana grupta 35 ve 36, 40 ve 11, 3, 4, 5 ve 42, 29 ve 30, 13 ve 14 ile 8, 10, 12, 16, 17, 19, 20, 21, 23, 24, 28, 34, 43, 44 ve 45 nolu genotiplerin kullanılan primerler bakımından benzer olduğu tespit edilmiştir. Düğmeli yonca genotiplerinin oluşturduğu dendogram ile genotiplerin toplandıkları yerleri karşılaştırdığımızda ise verilerin kısmen örtüştüğü görülmektedir. SSR markılarıyla elde edilen dendogramda toplandığı rakım 6 ve 8 olan 37 ve 38 nolu genotipler kullanılan primerler bakımından birbirine benzer

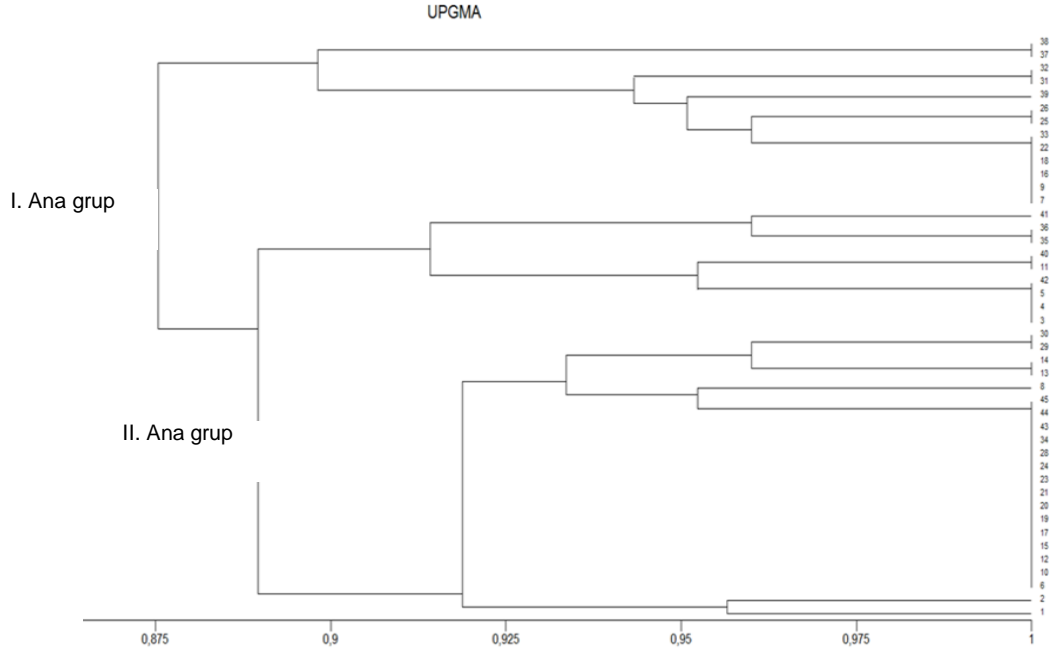
bulunmuştur. Dendogramda birbirine benzer olduğu görülen 31 ve 32 nolu genotiplerin toplandığı yerlere bakıldığında rakım değerlerinin 135 ile 941 olduğu görülmektedir. Yine birinci ana grup içerisinde yer alan 7, 9, 16, 18, 22 ve 33 nolu genotiplerin dendogramda benzer olduğu belirlenmiştir. Bu genotipleri incelediğimizde ise toplandıkları yer bakımından 7 ve 18 nolu genotiplerin birbirine yakın bölgelerden, 9, 16, 22 ve 33 nolu genotiplerinde birbirine yakın bölgelerden toplandığı görülmektedir.

İkinci ana grup içerisinde benzer olduğu belirlenen 3, 4, 5 ve 42 nolu genotiplerin toplandığı yerlere bakıldığında birbirlerine yakın alanlardan toplandığı görülmektedir (Şekil 1). Antalya'nın batı bölgesinden toplanan ve denemeye alınan 13, 14, 19 ve 25 nolu genotiplerden 13 ve 14 nolu genotiplerin birbirlerine benzer olduğu tespit edilmiştir. 19 nolu genotipi ise aynı ana grup içerisinde yer almıştır. Denemeden elde edilen dendogram ile genotiplerin toplandıkları yerler değerlendirildiğinde görülen benzerlik ve farklılıkların ileride yapılacak çalışmalarda daha fazla primer kullanılması ve SSR veya mikrosatellit markılarından başka diğer markır yöntemlerinin de devreye sokulmasıyla daha ayrıntılı sonuçlar verebileceği söylenebilir. M.Ö. 3. yüzyılda başlayan sistematik çalışmaları büyük ölçüde morfolojik karakter temeline dayanmaktadır. Tür sınırlarının tanımlanmasında sadece morfolojik verilerin yeterli olmadığı durumlar mevcuttur (Hillis vd., 1996; Işık, 1997). Bu durumdaki sorunları çözmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların başında moleküler işaretleyiciler gelmektedir. Moleküler işaretleyiciler yaygın olarak genetik karakterizasyon, bitkisel genetik kaynaklarının korunması ve genetik haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır (Quicke vd., 1993; Buth, 1984).

Genetik çeşitliliğin saptanmasında farklı metotlar kullanılmaktadır. Özellikle morfolojik ve biyokimyasal veriler ile pedigrı dataları çok uzun zamanlardan beri bu amaç için kullanılmaktadır (Oliveira vd., 2004). Bir popülasyonun değerlendirilmesinde morfolojik veriler oldukça sınırlı olup bunlar çevre şartlarının etkisi altında kalabilmekte ve bundan dolayı da popülasyonların genetik potansiyelleri tam olarak saptanamamaktadır (Smith ve Smith, 1989).







Şekil 4. SSR markırları ile elde edilen dendrogram

Bu durum genetik ilişkilerin tahminini ya da hesaplanmasını etkileyebilir. Moleküler işaretleyiciler, bitki popülasyonundaki çeşitlilik veya o popülasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkileri tespitinde % 100'e yakın güvenilirlikte değerlendirilirler (Gülşen ve Mutlu, 2005).

PCR'a dayalı markör sistemi olan SSR yöntemi güvenilir, tekrarlanabilir, polimorfizm oranı yüksek ve kodominanttır. Birçok bitki türünde genetik haritaların oluşturulması, popülasyon analizleri markör yardımıyla seleksiyon (MAS) ve başka amaçlarla kullanılmaktadır (Gupta ve Varshney, 2000). Ender görülen ve türe özgü tanıyıcı markörler üreten SSR tekniği aynı zamanda tür karmaşasının olduğu durumlarda da başarıyla kullanılabilir (Nimmakayala vd., 2009). Diwan vd. (2000), Yonca genomunda bol miktarda SSR DNA'nın bulunduğunu kalıtımının Mendel kurallarına uygun olduğunu ortaya koymuş ve *Medicago* türlerinde SSR'ların rahatlıkla kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Arraouadi vd. (2009), Tunusta yaptıkları çalışmada, *Medicago truncatula* L. nın doğal popülasyonlarında yaptıkları morfolojik ve moleküler (SSR) analizlerinde popülasyon içinde geniş varyasyon tespit etmişlerdir. Popülasyonlar arasında kantitatif farklılıktan fazla moleküler farklılıklar tespit etmişlerdir. Ülkemizde Alınca (2008) tarafından Güneydoğu Anadolu

bölgesinden toplanan 17 düğmeli yonca genotipinin moleküler karakterizasyon çalışmasında benzerlik katsayısını ortalama 0.70 olarak belirlemiştir.

#### 4. Sonuç

Tek yıllık bir yonca türü olan ve Akdeniz Bölgesinin doğal florasında yaygın bir şekilde bulunan düğmeli yonca (*Medicago orbicularis* L.), vejetasyon süresinin uzun olması, mera alanlarının ıslahında kullanılma potansiyelinin olması gibi üstün özellikleri nedeniyle çalışmamıza konu olarak seçilmiştir. Bu çalışma kapsamında Antalya doğal florasından toplanan 45 adet düğmeli yonca genotipinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Toplama çalışmalarında düğmeli yonca genotiplerinin 6 m rakımlı sahil kuşağından, 1223 m rakımlı yaylalara kadar Antalya doğal florasında yaygın bir şekilde bulunduğu saptanmıştır. Düğmeli yonca moleküler analizlerde genotipler arasında geniş bir varyasyon olduğu tespit edilmiştir. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında 15 adet SSR primeri genotipleri ayırmak için kullanılmıştır. Elde edilen dendrogram incelendiğinde genotiplerin 0.87 benzerlik seviyesinde 2 gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Genotiplerin moleküler dendrogramı ile toplandıkları yer açısından değerlendirildiğinde benzerlik ve farklılıklar bulunmaktadır.

Antalya'nın batı bölgelerinden toplanan 13, 14, 19 ve 25 nolu genotiplerden 13 ve 14 nolu genotiplerin benzer olduğu belirlenmiş, 19 nolu genotipin ise aynı ana grupta yer aldığı saptanmıştır. 25 nolu genotipin ise farklı ana grupta yer aldığı tespit edilmiştir. Denemeden elde edilen dendogram ile genotiplerin ve toplandıkları yerler değerlendirildiğinde görülen benzerlik ve farklılıkların ileride yapılacak çalışmalarda daha fazla primer kullanılması ve SSR veya mikrosatellit markırlarından başka diğer markır yöntemlerinin de devreye sokulmasıyla daha ayrıntılı sonuçlar verebileceği sonucuna varılmıştır.

#### Teşekkür

Bu çalışma Prof. Dr. Sadık ÇAKMAKÇI danışmanlığında yürütülen ve Akdeniz Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen "Antalya Doğal Florasından Toplanan Düğmeli Yonca (*Medicago orbicularis* L.)'nın Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu" başlıklı doktora tezinden türetilmiştir. Bu vesile ile saygıdeğer hocama Allah'tan rahmet dilerim.

#### Kaynakça

- Alınca, S. (2008). Güneydoğu Anadolu Bölgesinden toplanan buton yoncasının (*Medicago orbicularis* L.) morfolojik özellikleri ve moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.
- Arraouadi, S., Badri, M., Cheruth, A. J., Naceur, H.I., Huguet, T., & Aouani, M.E. (2009). Analysis of genetic variation in natural populations of *Medicago truncatula* of Southern Tunisian ecological areas, using morphological traits & SSR markers. *Tropical Plant Biology*, 2(3):122-132.
- Barkley, N.A., Roose, M.L., Krueger, R.R., & Federici, C.T. (2006). Assessing genetic diversity & population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theoretical & Applied Genetics*, 112(8):1519-1531.
- Buth, D.G. (1984). The application of electrophoretic data in systematic studies. *Annual Review Ecology and Systematics*, 15:501-522.
- Davis, P.H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Diwan, N., Bouton, J.H., Kochert, G., & Cregan, P.B. (2000). Mapping of simple sequence repeat (SSR) DNA markers in diploid and tetraploid alfalfa. *Theoretical & Applied Genetics*, 101(1-2):165-172.
- Doyle, J.J., & Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Flajoulot, S., Ronfort, J., Baudouin, P., Barre, P., Huguet, T., Huyghe, C., & Julier, B. (2005). Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theoretical & Applied Genetics*, 111(7):1420-1429.
- Gülşen, O., & Mutlu, N. (2005). Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4(2):27-37.
- Gupta, P.K., & Varshney, R.K. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*, 113 (3):163-185.
- Hillis, D.M., Mable, B.K. & Moritz, C. (1996) Applications of molecular systematics: The state of the field and a look to the future. In: Hillis, D.M., Moritz, C. and Mable, B.K. Eds., Molecular systematics, Sinauer Associates, Massachusetts, p:515-543.
- Işık, K. (1997). Karakter Kavramı ve Karakterlerin Genetik Temeli. Taksonomi Yaz Okulu Ders Notları, Antalya.
- Nimmakayala, P., Tomason, R.Y., Jeong, J., Ponniah, K.S., Karunathilake, A., Levi, A., Perumal, R., & Reddy, K.U. (2009). Genetic reticulation and interrelationships among Citrullus species as revealed by joint analysis of shared AFLPs and species-specific SSR alleles. *Plant Genetic Resources Characterization and Utilization*, p:1-10.
- Ocuppaugh, W.R., Bade, D.H., Cassida, S.W., Coleman, W.R., Grichar, M.A., Pitman, W.D., & Smith, G.R. (1998). Limits of adaptation of a Burr Medic selection naturalized in South Texas. *Forage and Grassland Cong.* p:148-152.
- Oliverira, K.M., Laborda, P.R., Garcia, A.A., Zagatto-Paterniani, M.E.A.G., & Pereira De Souza, A. (2004). Evaluating genetic relationships between tropical maize inbred lines by means of AFLP profiling. *Hereditas*, 140(1):24-33.
- Quicke, D. (1993). Principles and Techniques of Contemporary Taxonomy, 1993. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Sayar M.S. (2011). Güneydoğu Anadolu Çayır Mera alanlarında Bulunan Bazı Önemli Yem Bitkisi Türleri, GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü Yayınları, 53 Sayfa, Diyarbakır.
- Sayar, M.S., Han, Y., Başbağ, M., Gül İ., & Polat T. (2015). Rangeland improvement and management studies in Southeastern Anatolia Region of Turkey. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 52(1): 9-18.
- Smith, J., & Smith, O. (1989). The description and assessment of distances between inbred lines of maize: I. The use of morphological traits as descriptors. *Maydica*, 34, 141-150.
- Tan, A. (1992). Türkiye'de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. *Anadolu*, 2(1):50-64.