



Determination of Genetic Diversity in Elite Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) Genotypes Using SSR Markers

Gönül Cömertpay^{1*}, Hüseyin Özpinar²

^{1*}Eastern Mediterranean Agricultural Research Institute, 01370, Dogankent, Yuregir, Adana, Turkey

Corresponding author, E-mail: gonul.comertpay@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6522-4596>

²Egean Agricultural Research Institute, No:57, Menemen, Izmir, Turkey

E-mail: huseyin.ozpinar@tarim.gov.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3351-3908>

ARTICLE INFO

Research Article

Received : 26/10/2018

Accepted : 01/11/2018

Keywords:

Orchardgrass

Dactylis glomerata

Genetic diversity

SSR

Molecular marker

ABSTRACT

Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) is an economically important, and widely cultivated perennial forage grass. The aim of this study was to determine the genetic diversity and genetic relationship among the orchardgrass breeding lines developed in Aegean Agricultural Research Institute, using simple sequence repeat (SSR, microsatellite) molecular markers. The genetic diversity of 32 orchardgrass was assessed using a set of 24 SSR markers. SSR primer pair combinations yielded 126 alleles for all genotypes. The number of alleles per locus ranged from three to seven with an average of 5.25 alleles across 24 loci. The alleles size ranged from 101 to 354 and the polymorphism rate was 100%. Jaccard genetic distance coefficient varied from 0.21 to 0.84 among genotypes. The degree of genetic diversity among the genotypes was high. Total number of rare alleles was 28 alleles across 126 loci. Dendrogram constructed using neighbor-joining analysis based on Jaccard genetic distance matrix were clustered into three main groups A, B and C. Group A was the largest group contained 15 genotypes, while B had 13 genotypes originated mainly from same region. The group C was the smallest group contained genotypes originated from northern part of Turkey. The molecular analysis revealed that a significant genetic variation existed in this orchardgrass collection, and the genotypes studied have potential for ensure rich genetic resources in orchardgrass breeding program. In addition to this, it was concluded that SSR markers are suitable markers for the molecular identification of different orchardgrass genotypes.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(1): 127-133, 2019

Elit Domuz Ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) Genotiplerinde Genetik Çeşitliliğin SSR Markörleri ile Belirlenmesi

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 26/10/2018

Kabul : 01/11/2018

Anahtar Kelimeler:

Domuz ayrığı

Dactylis glomerata

Genetik çeşitlilik

SSR

Moleküler markör

ÖZ

Domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan, ekonomik açıdan önemli çok yıllık bir buğdaygil yem bitkisidir. Bu araştırma, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü yem bitkileri ıslah programı kapsamında geliştirilen elit domuz ayrığı klonlarının akrabalık derecelerini ve genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada 32 genotip ve 24 SSR primeri kullanılmıştır. Moleküler analiz sonucunda SSR primerleri toplamda 126 allel üretmiştir. Allel sayısı 3 ile 7 arasında değişmiş ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı 5,25 olarak bulunmuştur. Elde edilen allel büyüklükleri ise 101 bp ile 354 bp arasında değişmiş ve polimorfizm oranı her primer için %100 olarak gerçekleşmiştir. Bireyler arasında uzaklık derecesi Jaccard genetik uzaklık katsayısı kullanılarak elde edilmiş ve 0,21 ile 0,84 arasında değişmiş ve genetik çeşitlilik seviyesi yüksek bulunmuştur. Genotiplerden elde edilen 126 allelin 28'nin nadir alleller olduğu ortaya çıkmıştır. Jaccard genetik uzaklık katsayısı kullanılarak yapılan neighbor-joining analizi sonucunda oluşturulan dendrogram 3 ana gruba ayrılmıştır. A grubu en büyük grubu oluşturmuş ve bünyesinde 15 genotip barındırmıştır. B grubu orijini aynı bölge olan 13 genotiple ikinci büyük grubu oluşturmuştur. C grubu ise en küçük grup olup orijini Türkiye'nin kuzeyi olan genotipleri barındırmıştır. Moleküler analizler domuz ayrığı genotiplerinin önemli derecede genetik varyasyon taşıdığı ve ıslah programı için değerli kaynaklar olduğu ortaya çıkmıştır. Bunlara ek olarak, SSR tekniğinin domuz ayrığı genotiplerini moleküler olarak tanımlamada oldukça uygun ve etkili bir teknik olduğu sonucuna varılmıştır.



Giriş

Ülkemizde hayvancılığın en temel sorunlarından biri kaliteli, ucuz kaba yem ihtiyacının yeterli seviyede karşılanamamasıdır. Hayvan beslemesinde kullanılan yemler; konsantre kesif yemler, kaba yemler ve çeşitli endüstri artıkları (küspeler, posalar) şeklinde sıralanabilir. Konsantre kesif yemlerin fiyatları kaba yemlere göre daha yüksektir ve üreticiler için oldukça yüksek maliyetlidir. Küspeler gibi endüstri atıklarının miktarı ise oldukça düşük seviyelerdedir ve hayvansal üretim için kesinlikle yeterli değildir. Hayvansal üretimde maliyetin %70'ini yem girdileri oluşturmaktadır. Bu nedenle, ucuz ve kaliteli yem kaynaklarını kullanmak hayvansal üretimde karlılığı arttırmaktadır (Serin ve Tan, 2001).

Ülkemiz tarım alanlarının %38,5'lik gibi büyük bir kısmını oluşturan (TUIK, 2016) çayır mera alanları en önemli kaba yem kaynaklarını oluşturmalarına karşın aşırı otlama, ıslah ve amenajman sorunları nedeniyle verimleri oldukça düşüktür. Meraların verimlerinin düşük olmasının yanında tarla tarımı içerisinde yem bitkilerinin üretimi de tüm çabalara rağmen yeterli düzeye gelememiştir (Ayan ve ark., 2011). Çayır-meralarımızın ıslah edilmesi ve yem bitkileri tarımının yaygınlaştırılması için farklı ekoloji bölgeler için adapte olmuş yüksek ve kaliteli ot üreten yem bitkisi çeşitlerine ve bu çeşitlerin yeterli miktarda tohumlarına gereksinim vardır. Çok farklı ekolojik koşullara sahip ülkemizde her ekolojik bölgeye adapte olabilen tescilli, yüksek verimli yem bitkisi çeşitleri yeterli değildir. Tescilli olanların büyük bir çoğunluğu ise, farklı ülkelerin iklim ve toprak koşullarına uygun olarak geliştirilmiş introdüksiyon çeşitlerdir. Ülkemizde tescil edilmiş yem bitkisi çeşitlerinin çoğu ağırlıklı olarak Baklagil yem bitkileridir. Buğdaygil yem bitkilerinde çeşit sayısı sınırlı ve neredeyse tamamına yakını dış kaynaklıdır. Buğdaygil yem bitkileri grubu içerisinde birçok farklı tür yer almaktadır. Bu grup içerisinde yer alan bir yem bitkisi olan Domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L) hem serin hem ılıman iklim koşullarında yetişebilen yüksek verimli, adaptasyon yeteneği yüksek ve dünyanın her yerinde kullanılan çok yıllık bir yem bitkisidir (Sanada ve ark., 2007; Jafari ve Naseri, 2007; Xie ve ark., 2010). Hayvancılığı gelişmiş ülkelerde bu bitki neredeyse bir asırdan fazladır hem mera hem de kuru ot amacıyla yetiştirilmektedir (Casler ve ark., 2000; Lindner ve Garcia, 1997). Domuz ayrığı yabancı tozlanan poliploid bir tür olup ülkemizin çayır ve mera vejetasyonlarında yaygın olarak bulunmaktadır.

Domuz ayrığı çeşit ıslahında da diğer yem bitkilerinin ıslahında olduğu gibi sentetik çeşit ıslah metodu uygulanmaktadır. ıslahın başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için ıslah materyallerinin geniş tabanlı popülasyonlardan oluşması gereklidir ve ıslah döngüsü bu popülasyonlarda yer alan genotiplerin klonal seleksiyonuyla başlar (Casler ve ark., 2000). Bu nedenle ıslah materyallerinde genetik çeşitliliğin belirlenmesi ıslah programının başarısını etkilemektedir. Son yıllarda, genetik çeşitliliğin saptanmasında moleküler markörler çok başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Domuz ayrığı türünde, Tesadüfi Çoğaltılmış Polimorfik DNA (random amplified polymorphic DNA-RAPD) (Kölliker ve ark., 1999; Tuna ve ark., 2004) Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı

(amplified fragment length polymorphisms-AFLP) (Peng ve ark., 2008), Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (inter-simple sequence repeats -ISSRs) (Zeng ve ark. 2006) ve basit tekrarlı diziler (simple sequence repeats -SSR) (Xie ve ark., 2010; Hirata ve ark., 2011; Xie ve ark., 2011, Xie ve ark., 2012, Bushman ve ark., 2011) gibi farklı moleküler tekniklerin uygulandığı çalışmalar bulunmaktadır. Bu markör teknikleri, çok sayıda polimorfik lokus sağlamaları nedeniyle neredeyse standart uygulamalar haline gelmiştir (Heun ve ark., 1994). Moleküler markörler başarılı ıslah programlarında materyallerin tanımlanması ve popülasyon yapısının ortaya konması gibi çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Domuz ayrığı ıslah programında yer alan elit klon aşamasına gelmiş klonların genetik çeşitliliğini saptamak ve tanımlamak amacıyla yürütülmüş olan mevcut çalışma ile tanımlanan materyalin ıslah çalışmalarında daha etkin kullanılmasını sağlamaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü yem bitkileri ıslah programında yer alan ve elit aşamaya gelmiş domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) türüne ait 32 klon kullanılmıştır. Klonlara ait kodlar klon numaraları ve orijinlerine ait bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

Domuz ayrığı elit klonlarına ait taze yaprak örnekleri Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü arazisinden toplanmış kutulara yerleştirilip soğuk taşıma yoluyla Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik laboratuvarına transfer edilmiştir. Çalışmada genomik DNA izolasyonu için CTAB DNA izolasyon protokolü (Doyle ve Doyle, 1990) uygulanmıştır. PCR reaksiyonlarını gerçekleştirebilmek amacıyla elde edilen DNA konsantrasyonları 10 ng/μl'ye ayarlanmıştır. PCR analizlerinde kullanılan SSR primer çiftleri Bushman ve ark. (2011), Last ve ark. (2013) ve Xie ve ark. (2012)'nin yapmış olduğu çalışmalarda kullanılan primelerdir (Tablo 2). Polimeraz zincir reaksiyonları Cömertpay ve ark. (2011)'e göre yapılmıştır. PCR reaksiyon solüsyonu toplam hacmi 12μl olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu reaksiyon solüsyonu 1X PCR Dream Taq buffer, 2,5 mM dNTPs, 5U/μl Dream Taq polimarese, 5 pmol DNA başlatım dizilimleri (forward ve reverse primer), 5 pmol FAM, VIC, NED ve PET floresans boyalı M13 primer ve 10 ng DNA örneğinden oluşmuştur. Reaksiyonun birinci aşaması 94°C'de 5 dakika denatürasyon ile başlamış ve bir döngü 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 58°C'de 1 dakika bağlanma 72°C'de 1 dakika (30 döngü) ile devam etmiş ve 2. aşaması 94°C'de 45 saniye, 53°C'de 1 dakika, 72°C'de 1,30 dakika (10 döngü), son döngüde uzama süresi 72°C'de 10 dakikaya çıkartılmıştır. PCR ürünleri ABI 3130xl genetik analizörde ayrıştırılmıştır. Genotiplerden elde edilen veriler, R istatistik paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Bireyler arasındaki uzaklık Jaccard (1908)'e göre hesaplanmıştır. Uzaklık katsayıları kullanılarak Neighbor-joining analizi gerçekleştirilmiş ve dendrogram oluşturulmuştur (Paradis, 2011).

Tablo 1 Araştırmada incelenen domuz ayrığı elit hatlarının orijinleri

Table 1 Origin of the orchardgrass clones used in the study

Sıra No	Klon no	Orijin	Sıra No	Klon No	Orijin
1	22/17	Türkiye, (Bilinmiyor)	17	39/25	Türkiye, Balıkesir, Kovancı
2	28/32	Türkiye, (Bilinmiyor)	18	39/57	Türkiye, Balıkesir Kovancı
3	22/14	Türkiye, (Bilinmiyor)	19	40/3	Türkiye, Balıkesir, Erdek
4	17/24	Türkiye, Düzce	20	40/6	Türkiye, Balıkesir, Erdek
5	12/9	Türkiye, Samsun	21	42/27	Türkiye, Balıkesir, Erdek
6	12/8	Türkiye, Samsun	22	42/42	Türkiye, Balıkesir, Erdek
7	30/22	Türkiye, Manisa	23	41/24	Türkiye, Balıkesir, Erdek
8	30/24	Türkiye, Manisa	24	42/24	Türkiye, Balıkesir, Erdek
9	31/23	Türkiye, Manisa	25	42/29	Türkiye, Balıkesir, Erdek
10	35/6	Türkiye, İzmir	26	42/35	Türkiye, Balıkesir, Erdek
11	36/3	Türkiye, Balıkesir, Kalkım	27	45/1	Türkiye, Balıkesir,
12	36/8	Türkiye, Balıkesir, Kalkım	28	32/12	Currie (çeşit) (Avustralya)
13	37/23	Türkiye, Balıkesir, Kalkım	29	32/25	Currie (çeşit) (Avustralya)
14	39/4	Türkiye, Balıkesir, Kovancı	30	32/31	Currie (çeşit) (Avustralya)
15	39/7	Türkiye, Balıkesir, kovancı	31	32/35	Currie (çeşit) (Avustralya)
16	39/13	Türkiye, Balıkesir, Kovancı	32	32/36	Currie (çeşit) (Avustralya)

Tablo 2 Domuz ayrığı genotiplerinde kullanılan SSR primerleri

Table 2 Orchardgrass SSR primers used in the study

No	Primer adı	F primer	R primer	TT ¹
1	A01F24	AAAATGTTTTATTCTCAGCCC	TGCAAGATGGAATGCTCT	2
2	A01K14	AAGGATGGCCTGATCTTC	GCAGAGGTCTTTCTCTTGG	2
3	A03B16	TCTGGAATCTCTTGAAATCA	ATCTTGACCTGATGTTCTG	2
4	B01A05	GAGAGCGGCAGAGTTATTC	AAAGGTCGATATCTCTATTCCA	2
5	A03K22	AGACTCTAGGGTGGCACAC	GTAGCACGCTAACGAGAGAT	2
6	Dg_Contig1744	GCTGTTGCACAGTTAGTAGTTCGT	CTAACACTGACAGCGTGTCTTCT	4
7	Dg_Contig66	AGGTAACATTGGAGAGAAAGGCT	CTACTAGTTCGTCATCTCCTGGT	3
8	Dg_Contig7660	GACAAGCGGAAATGGATGAG	GTCGTCTGTATGAAGAATTCAGA	3
9	Dg_Contig4556	TCTGGAGAAATATGCTGAGAGTTG	TTGACTTCCTTCATAGCGTTACA	3
10	Dg_Contig10135	ATGAGGAGGAGATAGAGAAGCTCA	ATCTGATGTTATTCCAAGGAAACG	3
11	Dg_Contig10764	AACGTCGACAGGAGTGTTAAAT	TAGGAGTAGATTGTGCAGGATGAA	3
12	Dg_Contig4296	GCAAGACTACGACTCTCACGG	GTAGATGTTGTGCACGATGGAG	3
13	Dg_Contig11285	GCAGCTACCATTTTCAGGTGAG	AATTTTCAGCAGAAACGTCAGAAA	4
14	Dg_Contig6373	ATCGAGATCAGAAGGTCAAAGAAG	GGGTAGAAGCTGAAGGACCAG	3
15	Dg_Contig3546	AGTGTAGAAGCCTAGCTGTTTGTCT	AGTTCAGCTGCTTGGAGGACT	3
16	Dg_Contig12453	CTGAGATTCAAAGTCAACTGTCCA	AAGTTACCGGACCCGATCTC	2
17	Dg_Contig10487	CACAACCCCGATTACTGCAC	AGAAGCTCGTGAGGTTGGAGT	3
18	Dg_Contig4921	AAATTTGAGAAAAGAAACGACCAG	ACGCATAGACATAACCGATGTAGA	3
19	Dg_Contig4563	GTATCATTCACCATGGAGGACAG	GAATCTCATCGTAGTCGCTGTATG	3
20	Dg_Contig10236	CGGGTTTTAATCCGGTTCTC	GACCTCTGCATCGCCTTGTA	4
21	Dg_Contig3264	TTCGCTGTATCAAGTCTGAAGAAC	GCATCAAGAAACATTTACAGTTGG	3
22	Dg_Contig11508	AATTGAGAGAAAAGGTAGGTGTGG	CACCACCTAGTGTACTCACTCC	4
23	Dg_Contig4478	TGATTATATTCAATCGGCTACGTG	AAGATCAGTTCCGCAAATTAGAAC	3
24	Dg_Contig667	GAAGTAGCCAGCGATGATGAG	TATCACCTAGGCTGGATGCC	3

¹TT: Tekrar tipi

Bulgular ve Tartışma

Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün yem bitkileri ıslah programında yer alan 32 adet domuz ayrığı klonu kullanılarak yapılan moleküler analizlerde iyi PCR ürünü verebilen SSR primerleri kullanılmıştır. Moleküler analizlerde primerler arasından en polimorfik ve iyi bant verebilen 24 tane SSR primer çifti seçilmiş ve analizlerde kullanılmıştır. DNA analizlerinde kullanılan SSR primerlerinden elde edilen bant uzunlukları, allel sayıları polimorfik bant sayıları, polimorfizm oranları ve nadir allel sayılarına ait sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir. 24 adet SSR primer çifti ile yapılan PCR analizlerinin sonucunda elde edilen bant uzunluğu 101 bp ile 354 bp arasında değişmiş, toplamda 126 adet allel elde edilmiştir. Primerlere ait allel sayıları 3 ila 7 arasında değişmiş ve en yüksek allel sayısı

A01K14, A03B16, Dg_Contig4556 ve Dg_Contig10135 (7) primerlerinden, en düşük allel sayısı ise Dg_Contig10764 ve Dg_Contig4478 (3) primerinden elde edilmiştir. Ortalama allel sayısının 5,25 olduğu bulunmuştur. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen bantların tamamının (%100) polimorfik olduğu ve primerlerden büyük çoğunluğunun nadir alleller ürettiği belirlenmiştir (Tablo 3). Domuz ayrığı genotiplerinde kullanılan primerlere ait bantların Poimorfizm oranının %100 gibi yüksek bir oranda bulunması farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Xie ve ark., 2012). Bu da domuz ayrığı türünün yüksek genetik çeşitlilik gösterdiğine işaret etmektedir (Bushman ve ark 2011).

Tablo 3 Domuz ayriğinde 24 primere ait amplifikasyon sonuçları
 Table 3 Amplification results of 24 SSR primer pairs used for orchardgrass

No	Primer adı	Bant büyüklüğü	Allel sayısı	Polimorfik band sayısı	Polimorfizm oranı (%)	Nadir allel sayısı (<5%)
1	A01F24	165-203	4	4	100	1
2	A01K14	148-202	7	7	100	1
3	A03B16	161-183	7	7	100	0
4	B01A05	125-143	6	6	100	1
5	A03K22	101-126	6	6	100	1
6	Dg_Contig1744	205-231	6	6	100	1
7	Dg_Contig66	188-211	6	6	100	3
8	Dg_Contig7660	331-354	6	6	100	0
9	Dg_Contig4556	197-226	7	7	100	1
10	Dg_Contig10135	217-271	7	7	100	1
11	Dg_Contig10764	107-127	3	3	100	0
12	Dg_Contig4296	204-217	5	5	100	1
13	Dg_Contig11285	101-154	6	6	100	1
14	Dg_Contig6373	193-203	4	4	100	1
15	Dg_Contig3546	189-231	5	5	100	1
16	Dg_Contig12453	119-135	6	6	100	1
17	Dg_Contig10487	129-203	4	4	100	1
18	Dg_Contig4921	252-274	5	5	100	3
19	Dg_Contig4563	135-154	5	5	100	2
20	Dg_Contig10236	106-116	4	4	100	1
21	Dg_Contig3264	153-163	6	6	100	2
22	Dg_Contig11508	184-203	4	4	100	3
23	Dg_Contig4478	210-239	3	3	100	1
24	Dg_Contig667	147-211	4	4	100	0
		Toplam	126	126	-	28
		Ortalama	5,25	5,25	100	-

Tablo 4 Domuz ayriği klonları arasındaki genetik uzaklık katsayıları
 Table 4 Genetic distance coefficients between orchardgrass genotypes

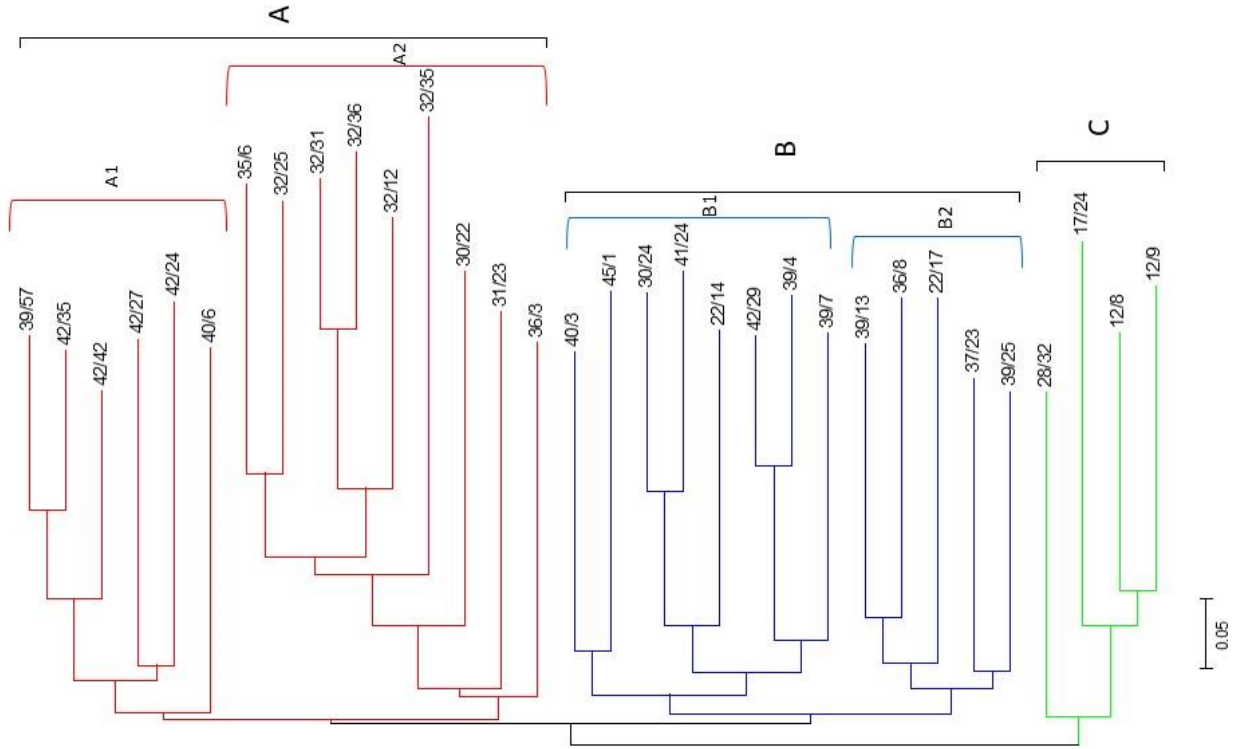
Klon no	12/9	17/24	30/22	31/23	32/12	36/3	36/8	37/23	39/13	39/25
17/24	0,48									
30/22	0,67	0,62								
31/23	0,65	0,65	0,58							
32/12	0,65	0,66	0,57	0,61						
36/3	0,58	0,62	0,56	0,53	0,58					
36/8	0,61	0,59	0,55	0,61	0,61	0,59				
37/23	0,61	0,68	0,53	0,53	0,52	0,51	0,52			
39/13	0,60	0,67	0,55	0,53	0,62	0,56	0,42	0,49		
39/25	0,59	0,62	0,56	0,47	0,63	0,52	0,48	0,41	0,45	
40/3	0,64	0,65	0,59	0,59	0,67	0,54	0,55	0,48	0,49	0,49
40/6	0,65	0,68	0,62	0,57	0,61	0,52	0,62	0,51	0,58	0,48
42/27	0,61	0,61	0,60	0,64	0,52	0,50	0,57	0,52	0,53	0,52
42/42	0,57	0,59	0,54	0,56	0,59	0,53	0,47	0,47	0,47	0,49
12/8	0,40	0,52	0,63	0,60	0,63	0,60	0,62	0,62	0,58	0,52
22/14	0,59	0,68	0,62	0,54	0,62	0,55	0,61	0,47	0,49	0,55
22/17	0,68	0,69	0,59	0,57	0,66	0,63	0,51	0,48	0,49	0,49
28/32	0,60	0,54	0,60	0,54	0,71	0,55	0,58	0,49	0,58	0,48
30/24	0,63	0,73	0,67	0,60	0,71	0,62	0,62	0,54	0,52	0,61
32/35	0,75	0,84	0,56	0,62	0,64	0,64	0,68	0,76	0,58	0,65
35/6	0,67	0,70	0,60	0,72	0,44	0,69	0,57	0,59	0,69	0,59
39/4	0,59	0,64	0,60	0,65	0,74	0,64	0,50	0,52	0,56	0,53
39/7	0,58	0,66	0,65	0,54	0,64	0,58	0,54	0,48	0,46	0,51
39/57	0,70	0,67	0,58	0,56	0,61	0,57	0,53	0,56	0,53	0,55
41/24	0,59	0,64	0,68	0,56	0,73	0,58	0,65	0,62	0,54	0,59
42/24	0,60	0,61	0,58	0,54	0,69	0,57	0,62	0,61	0,57	0,55
42/29	0,62	0,66	0,62	0,62	0,72	0,59	0,49	0,50	0,55	0,54
42/35	0,65	0,63	0,58	0,57	0,68	0,54	0,53	0,56	0,53	0,51
45/1	0,62	0,72	0,63	0,61	0,70	0,51	0,61	0,54	0,55	0,58
32/25	0,66	0,76	0,63	0,62	0,55	0,59	0,64	0,58	0,67	0,59
32/31	0,73	0,70	0,66	0,68	0,42	0,61	0,62	0,56	0,67	0,64
32/36	0,76	0,76	0,71	0,67	0,43	0,71	0,61	0,58	0,67	0,62

Table 4 (Devamı) Table 4 Continued

Klon no	40/3	40/6	42/27	42/42	12/8	22/14	22/17	28/32	30/24	32/35
17/24										
30/22										
31/23										
32/12										
36/3										
36/8										
37/23										
39/13										
39/25										
40/3										
40/6	0,49									
42/27	0,48	0,51								
42/42	0,47	0,53	0,44							
12/8	0,62	0,54	0,59	0,51						
22/14	0,51	0,57	0,60	0,48	0,49					
22/17	0,54	0,56	0,62	0,50	0,60	0,59				
28/32	0,55	0,52	0,57	0,51	0,51	0,55	0,51			
30/24	0,55	0,56	0,59	0,53	0,59	0,39	0,53	0,52		
32/35	0,83	0,62	0,56	0,77	0,70	0,68	0,79	0,82	0,67	
35/6	0,69	0,59	0,48	0,62	0,75	0,78	0,69	0,74	0,73	0,50
39/4	0,52	0,58	0,61	0,57	0,62	0,51	0,60	0,54	0,52	0,68
39/7	0,59	0,56	0,58	0,48	0,56	0,49	0,57	0,53	0,47	0,71
39/57	0,55	0,53	0,52	0,36	0,62	0,52	0,61	0,55	0,57	0,80
41/24	0,61	0,60	0,61	0,54	0,55	0,52	0,57	0,53	0,30	0,71
42/24	0,56	0,53	0,49	0,51	0,52	0,58	0,59	0,59	0,63	0,75
42/29	0,49	0,53	0,55	0,53	0,62	0,52	0,57	0,53	0,48	0,71
42/35	0,51	0,51	0,43	0,30	0,55	0,58	0,52	0,51	0,57	0,82
45/1	0,47	0,59	0,52	0,59	0,64	0,49	0,63	0,62	0,57	0,72
32/25	0,60	0,60	0,53	0,65	0,65	0,67	0,70	0,71	0,70	0,67
32/31	0,65	0,63	0,61	0,64	0,69	0,68	0,65	0,73	0,73	0,63
32/36	0,70	0,62	0,59	0,64	0,74	0,76	0,65	0,79	0,76	0,55

Table 4 (Devamı) Table 4 Continued

Klon no	35/6	39/4	39/7	39/57	41/24	42/24	42/29	42/35	45/1	32/25	32/31
17/24											
30/22											
31/23											
32/12											
36/3											
36/8											
37/23											
39/13											
39/25											
40/3											
40/6											
42/27											
42/42											
12/8											
22/14											
22/17											
28/32											
30/24											
32/35											
35/6											
39/4	0,73										
39/7	0,70	0,45									
39/57	0,69	0,53	0,50								
41/24	0,76	0,59	0,52	0,56							
42/24	0,65	0,59	0,63	0,52	0,65						
42/29	0,69	0,21	0,45	0,46	0,51	0,51					
42/35	0,70	0,59	0,58	0,24	0,52	0,46	0,50				
45/1	0,72	0,58	0,47	0,57	0,62	0,65	0,49	0,59			
32/25	0,40	0,74	0,65	0,62	0,74	0,61	0,65	0,68	0,55		
32/31	0,57	0,67	0,62	0,66	0,73	0,68	0,68	0,68	0,64	0,58	
32/36	0,45	0,70	0,67	0,69	0,78	0,68	0,69	0,70	0,73	0,57	0,23



Şekil 1 Domuz ayrığı klonlarına ait Neighbour-joining analizle oluşturulan dendrogram
Figure 1 Neighbour joining analysis of Orchardgrass clones dendrogram

Domuz ayrığı elit klonları arasındaki akrabalık derecelerinin anlaşılması için genotiplerin her bir primer için ürettiği alleler R paket programına yüklenmiş ve Jaccard uzaklık katsayısı kullanılarak genetik uzaklıklar belirlenmiştir (Tablo 4). Genotipler arasındaki uzaklık katsayısı büyük bir aralık göstermiştir. En düşük uzaklık katsayısı Türkiye orjinli Balıkesir Kalkım'dan toplanmış materyalden seçilmiş 39/4 kodlu klon ile yine Balıkesir Erdekten toplanmış materyalden seçilmiş 42/29 kodlu klon arasında 0,21 olarak, en yüksek uzaklık katsayısı ise Avustralya orjinli Currie çeşidine ait bitkiler arasında seçilmiş 32/35 kodlu klon ile Türkiye Düzce'den toplanmış materyalden seçilmiş 17/24 kodlu klon arasında 0,84 olarak saptanmıştır. Uzaklık katsayıları ile genotiplerin orijinleri (coğrafik konumları) birlikte değerlendirildiğinde oldukça uyumlu bir sonuç ortaya çıkmıştır. Elde edilen en düşük katsayı aynı bölgeden toplanmış materyalden seçilmiş klonlar arasında çıkmıştır. En yüksek uzaklık katsayısı ise coğrafik olarak birbirine uzak Türkiye ile Avustralya'da tescil edilmiş Currie çeşidine ait bitkilerden seçilmiş bir klon arasında çıkmıştır. Aslında Steiner ve Santos (2001) coğrafik uzaklığın, genetik uzaklıkla ilişkili olmadığına, genetik uzaklığın toplanan çevrenin ekolojik benzerliği ile ilgili olduğuna dikkat çekmektedir.

32 adet Domuz ayrığı klonu ve 24 SSR primeri ile yapılan neighbor joining analizi sonucunda oluşturulan dendrogramda (Şekil 1) genotipler kendi içinde 3 ana gruba ayrılmış olup bunlar A, B ve C olarak isimlendirilmiştir. A

grubu kendi içine 2 ayrı gruba (A1 ve A2) ayrılmış olup toplamda 15 genotip barındırarak en büyük grubu oluşturmuştur. B grubunda 13 adet domuz ayrığı genotipi yer almıştır, C grubu ise Karadeniz bölgesinden toplanmış materyalden seçilen 4 genotiple en küçük grubu oluşturmuştur. Oluşan gruplar incelendiğinde birkaç genotip hariç orijini aynı bölgeye dayanan genotiplerin genelde aynı grupta yer aldığı görülmüştür. Örneğin Currie çeşidinden seçilen klonların tamamı A2 grubunda bir arada yer almıştır, bu grupta Türkiye orjinli bireylerin de yer alması ancak Currie çeşidinin orijini ile açıklanabilir. Currie çeşidi her ne kadar Avustralya'da tescil edilmiş olsa da bu çeşide ait klonlar Akdeniz ekotipinde ve orijini ise Cezayir'e dayanmaktadır (Lolicato ve Rumball 2010; Barnard, 1972). Bununla beraber, hem farklı bölgelerden toplanmış genotipler arası hem de aynı bölgeye dayanan genotipler arasında da genetik çeşitliliğin yüksek olduğu bulunmuştur. Last ve ark., (2013), Xie ve ark (2012) ve Bushman ve ark. (2011) domuz ayrığında SSR moleküler markörleriyle yapmış oldukları çalışmalarda da benzer bulgular ortaya koymuşlardır.

Sonuç

Sonuç olarak, moleküler analizler Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü elit bahçesinde yer alan elit domuz ayrığı ıslah materyallerinin oldukça yüksek genetik çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuştur. Çalışmada

kullanılan mikrosatellit markörlerinin domuz ayrığı genotiplerinde çeşitliliği belirlemede oldukça etkin oldukları saptanmıştır. Belirlenen çeşitlilik düzeyi dikkate alındığında, devam etmekte olan domuz ayrığı ıslah programında yeni sentetik populasyon ve çeşitler oluşturulmasının mümkün olduğu görülmüştür.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 113O122 nolu proje kapsamında yürütülen araştırmanın sonuçlarına dayalı olarak hazırlanmıştır. Projemize vermiş olduğu destek nedeniyle TÜBİTAK'a teşekkür ediyoruz. Aynı zamanda Araştırmayı gerçekleştirmek için Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik laboratuvarını bizlere açan Prof. Dr. Hakan Özkan'a ve Prof. Dr. Rüştü Hatipoğlu'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Ayan İ, Acar Z, Kutbay GH, Aşçı ÖÖ, Mut H, Başaran U, Töngel MÖ. 2011. Orta Karadeniz Bölgesi'nde Bazı Buğdaygil Yem Bitkilerinin Toplanması Tanımlanması ve Kültüre Alınma Olanaklarının Araştırılması TÜBİTAK kesin sonuç raporu, Samsun.

Barnard, D. (ed.) 1972. Register of Australian herbage plant cultivars. CSIRO, Canberra

Bushman BS, Larson SR, Tuna M, West MS, Hernandez AG, Vullaganti D, Gong G, Robins JG, Jensen KB, Thimmapuram J. 2011. Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) EST and SSR marker development, annotation, and transferability. *Theor Appl Genetic*, 123 (1): 119-129. 10.1007/s00122-011-1571-2.

Casler MD, Fales SL, McElroy AR, Hall MH, Hoffman LD, Undersander DJ, and Leath KT. 2002. Half-sib Selection for Forage Yield in Orchardgrass. *Plant Breeding* 121: 43-48.

Cömertpay G, Baloch FS, Kilian B, Ülger AC, Özkan H. 2011. Diversity Assessment of Turkish Maize Landraces Based On Fluorescent Labelled Ssr Markers. *Plant Molecular Biology Reporter*. Doi 10.1007/S11105-011-0332-3

Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh leaf tissue. *Focus* 12: 13-15.

Heun M, Murphy JP, Phillips, TD. 1994. A comparison of RAPD and isozyme analyses for determining the genetic relationships among *Avena sterilis* L. accessions. *Theor Appl Genet* 87: 689-96. doi:10.1007/BF00222894.

Hirata M, Yuyama N, Cai H. 2011. Isolation and characterization of simple sequence repeat markers for the tetraploid forage grass *Dactylis glomerata*. *Plant Breed.* 130: 503-506. doi:10.1111/j.1439-0523.2010.01831.x

Jaccard P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution floreale. *Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat.* 44:223-270.

Jafari A, Naseri H. 2007. Genetic variation and correlation among yield and quality traits in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *J. Agr. Sci.* 610.

Kölliker R, Stadelmann, FJ, Reidy B, Nösberger J. 1999. Genetic variability of forage grass cultivars: A comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L., and *Dactylis glomerata* L. *Euphytica* 106: 261-270. doi:10.1023/A:1003598705582.

Last L, Widmer F, Fjellstad W, Stoyanova S, Kölliker R. 2013. Genetic diversity of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations in three regions in Europe. *BMC Genetics* 14: 102. pmid:24165514.

Lindner R, Garcia A. 1997. Geographic distribution and genetic resources of *Dactylis* in Galicia (northwest Spain) *Genet. Resour. Crop Evol.* 44 (6): 499.

Lolicato S, Rumball W. 1994. Past and present improvement of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) in Australia and New Zealand, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 37(3): 379-390, DOI: 10.1080/00288233.1994.9513075

Paradis, 2011. Analysis of Phylogenetics and Evolution with R. Second Edition. Springer New York.

Peng YAN, Zhang X, Deng Y, Ma X. 2008. Evaluation of genetic diversity in wild orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) based on AFLP markers. *Hereditas* 145: 174-181. doi:10.1111/j.2008.0018-0661.02038.x.

Sanada Y, Takai T, Yamada T. 2007. Ecotypic variation of water-soluble carbohydrate concentration and winter hardiness in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *Euphytica* 153: 267-280.

Serin Y, Tan M. 2001. Yem Bitkileri Kültürüne Giriş. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 206, 217s., Erzurum.

Steiner JJ, de los Santos GG. 2001. Adaptive ecology of *Lotus corniculatus* L. genotypes: I. Plant Morphology and RAPD Marker Characterizations. *Crop Sci.* 41: 552-563.

TUIK 2016. Türkiye İstatistik kurumu (<https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>)

Tuna M, Khadka DK, Shrestha MK, Arumuganathan K, Golan-Goldhirsh A. 2004. Characterization of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations of the Thrace Region of Turkey based on ploidy and DNA polymorphisms. *Euphytica* 135, 39-46. doi:10.1023/B:EUPH.0000009537.08697.4e.

Xie WG, Zhang XQ, Cai HW, Liu W, Peng Y. 2010. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *Biochem. Syst. Ecol.* 38: 740-749.

Xie W, Zhang X, Cai H, Huang L, Peng, Y, Ma X. 2011. Genetic maps of SSR and SRAP markers in diploid orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) using the pseudo-testcross strategy. *Genome* 54: 212-21. doi:10.1139/G10-111.

Xie WG, Lu, XF, Zhang XQ, Huang LK, Cheng L. 2012. Genetic variation and comparison of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) cultivars and wild accessions as revealed by SSR markers. *Genet Mol Res* 11: 425-33. doi:10.4238/2012.February.24.1

Zeng B, Zhang X, Fan Y, Lan Y, Ma X, Liu W. 2006. Genetic Diversity of *Dactylis glomerata* Germplasm Re-sources Detected by Inter-simple Sequence Repeats (ISSRs) Molecular Markers. *Hereditas* 28, 1093. doi:10.1360/yc-006-1093.