

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**SUSAMDA YENİ NESİL DİZİLEME VERİLERİ KULLANILARAK INDEL
MARKERLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Sibel UZUNOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

ŞUBAT 2020

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**SUSAMDA YENİ NESİL DİZİLEME VERİLERİ KULLANILARAK INDEL
MARKERLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Sibel UZUNOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

ŞUBAT 2020

ANTALYA

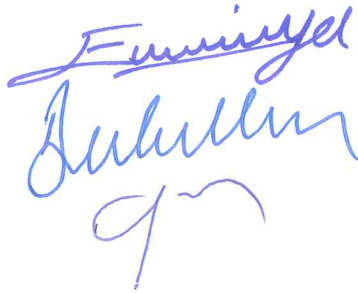
T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SUSAMDA YENİ NESİL DİZİLEME VERİLERİ KULLANILARAK INDEL
MARKERLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Sibel UZUNOĞLU
TARLA BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS

Bu tez 26/02/2020 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Engin YOL
Prof. Dr. Bülent UZUN
Doç. Dr. Sabri ERBAŞ



ÖZET

SUSAMDA YENİ NESİL DİZİLEME VERİLERİ KULLANILARAK INDEL MARKERLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Sibel UZUNOĞLU

Yüksek Lisans, Tarla Bitkileri

Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Engin YOL

Şubat 2020; 66 Sayfa

Moleküler markerler son zamanlarda bitki ıslah programlarının önemli bir parçası haline gelmiştir. Marker destekli yürütülen ıslah çalışmalarında iş gücünü azaltarak daha hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir. Günümüzde ıslah çalışmalarında çoğunlukla SNP ve SSR markerler tercih edilmekle birlikte yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak geliştirilen InDel (insersiyon-delesyon) markerler de önemli bir alternatif olarak gözükmektedir. Agaroz jelde farklılıkların ortaya konulabilmesini mümkün kılan bu markerler ile temel moleküler gereçlerin bulunduğu her laboratuarda çalışılabilmek mümkündür. Ayrıca yüksek polimorfizm göstermesi ve türler arası transferin mümkün olması InDel markerlerin moleküler destekli seleksiyon, genetik çeşitlilik ve genetik haritalama çalışmalarında oldukça fazla tercih edilmesine neden olmaktadır. Susam ıslah çalışmalarına ivme kazandırılması açısından farklı marker tiplerinin ıslah sürecine kazandırılması oldukça önem taşımaktadır. Bu tez çalışması ile dünyada farklı bölgelerden köken alan 95 susam genotipinin yeni nesil dizileme sonrası elde edilen verileri kullanılarak InDel markerler geliştirilmiştir. Analiz aşamasında referans genomdan farklı olarak 2 bp üzeri 785 bölge belirlenmiş ardından agaroz jelde ayırt edilebilir olan 8 bp üzeri InDel bölgeleri tanımlanmıştır. Belirlenen 86 InDel bölgesinden seçilen 38 tanesi için primer dizaynı yapılmıştır. Geliştirilen tüm markerler bulk DNA'larda beklenen bölgelerde bant verirken seçilen markerler ile 32 genotipten oluşan koleksiyonda genetik çeşitlilik başarılı şekilde ortaya konmuştur. Geliştirilen InDel markerlerin tüm dünyada moleküler temelli susam ıslah çalışmalarına katkıda bulunması beklenmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Genotipleme, InDel, Marker, Susam

JÜRİ: Doç. Dr. Engin YOL

Prof. Dr. Bülent UZUN

Doç. Dr. Sabri ERBAŞ

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF INDEL MARKERS WITH THE USE OF NEXT GENERATION SEQUENCING DATA IN SESAME

Sibel UZUNOĞLU

MSc Thesis in Department of Field Crops

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Engin YOL

February 2020; 66 pages

Molecular markers have recently become an important part of plant breeding programs. Accurate and reliable results can be achieved in marker aided breeding studies. Although SNP and SSR markers have been widely preferred, InDel (insertion-deletion) markers developed by next generation sequencing technologies are also an important alternative for breeding approaches. With these markers, differences can be monitored in agarose gels in any laboratory where basic molecular devices are available. In addition, high polymorphism and inter-species transferring makes the InDel markers are highly preferable for molecular assisted selection, genetic diversity and genetic mapping studies. In order to make progress in sesame studies, introducing different marker types is crucial for breeding process. In this thesis, InDel markers were developed by using the data obtained from next generation sequencing of 95 sesame genotypes originating from various regions of the world. Differing from the reference genome, 785 indel regions over 2 bp were detected and 86 regions over 8 bp were identified which were distinguishable on agarose gel. The 38 of the identified 86 InDel regions were used for primer design and all of these markers were successfully amplified with use of bulk DNAs. The selected markers were also demonstrated the genetic diversity of sesame germplasm including 32 genotypes. The developed InDel markers are expected to contribute to molecular-based sesame breeding studies worldwide.

KEYWORDS: Genotyping, InDel, Marker, Sesame

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Engin YOL

Prof. Dr. Bülent UZUN

Assoc. Prof. Dr. Sabri ERBAŞ

ÖNSÖZ

Susam ülkemiz için çok önemli bir yağlı tohum bitkisi olmasına rağmen özellikle ikinci ürün tarımında diğer endüstriyel bitkiler ile rekabet edememesi susam üretimimizin her geçen yıl azalmasına neden olmaktadır. Yüksek verimli ve önemli hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ise başlıca çözüm yolu olarak gözükmektedir. Üretimin arttırılması adına izlenecek önemli yollardan biri ise yoğun ve hızlı ıslah programlarının yürütülmesidir. Moleküler markerler çevre koşullarından etkilenmemeleri ve ıslah çalışmalarını kısaltması bakımından günümüz ıslah programlarının önemli bir parçası haline gelmişlerdir. Ancak literatür incelendiğinde susamda marker destekli yürütülen ıslah çalışmaları diğer endüstri bitkilerine kıyasla oldukça yetersizdir. Susamın ihmal edilmiş bir bitki olması, bu konuda çalışan araştırmacı sayısının az olması ve ıslahta kullanıma uygun marker sayısının yetersiz olması bu durumun başlıca sebepleri olarak değerlendirilebilir. Bu noktadan çıkılarak ele alınan bu tez çalışması ile yeni nesil dizileme verileri kullanılarak yeni InDel markerler geliştirilmiş olup bu markerler ile susam ıslah çalışmalarına katkıda bulunulması amaçlanmıştır. Çalışmada ayrıca 32 genotipten oluşan susam koleksiyonunda markerler testlenmiş ve genetik çeşitlilik başarılı şekilde belirlenmiştir.

Yüksek lisans eğitim hayatımda hedeflerime ilerlememde bana yol gösteren, tez çalışmamın her aşamasında yardımı ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Engin YOL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışma süresince desteğini her zaman hissettiğim, sürekli yanımda olan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak da eğitim hayatım boyunca maddi manevi tüm destekleri sağlayan ve her zaman desteklerini yanımda hissettiğim annem Firdevs KIZIL'a, babam Erol KIZIL'a, kardeşlerime ayrıca bu süreç boyunca en büyük destekçim olup her anımda yanımda olan eşim Erdener UZUNOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Yeni Nesil Dizileme Verileri Kullanılarak InDel Markerlerin Geliştirilmesi ve Kullanılması İle İlgili Çalışmalar	4
2.2. Susamda Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Genetik Çeşitlilik Çalışmaları.....	6
3. MATERYAL VE METOT.....	11
3.1. Materyal	11
3.1.1. Genetik materyal	11
3.2. Metot.....	12
3.2.1. Yeni nesil dizileme.....	12
3.2.2. InDel bölgelerinin belirlenmesi	12
3.2.3. Primer dizaynı.....	12
3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu Analizleri.....	12
3.2.5. Elektrolit çözeltisi	14
3.2.6. Jelin hazırlanması.....	14
3.2.7. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve elektroforez işlemi.....	14
3.2.8. Fragment Analyzer™ İle PCR sonrası analizlerin yapılması.....	14
3.2.9. Moleküler analizler	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	17
4.1. InDel Markerlerin Geliştirilmesi ve Testlenmesi	17
4.2. InDel Markerlerin Kullanılarak Susam Germplasmında Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi	27
5. SONUÇLAR.....	39
6. KAYNAKLAR.....	40
7. EKLER.....	46
7.1. Ek-1 Her bir marker için primer dizaynları	46
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Susamda Yeni Nesil Dizileme Verileri Kullanılarak InDel Markerlerin Geliştirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

26/02/2020

Sibel UZUNOĞLU



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	:Santimetre
°C	:Santigrat derece
F	:Fiksasyon indeksi
g	:Gram
ha	:Hektar
He	:Beklenen heterozigotluk
Ho	:Gözlenen heterozigotluk
I	:Shannon diversity indeksi
M	:Molar
Mb	:Megabaz
ml	:Mililitre
mM	:Milimolar
Na	:Farklı allel sayısı
Ne	:Efektif allel sayısı
uHe	:Yansız beklenen heterozigotluk
µl	:Mikrolitre
uv	:Ultraviyole

Kısaltmalar

AFLP	:Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AMOVA	:Moleküler Varyans Analizi
EDTA	:Etilen Diamin Tetra Asetik asit
FAO	:Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
ISSR	:Inter-Simple Sequence Repeat- Kısa Dizi Tekrarı Arası
MI	:Marker İndeksi
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonun
PCoA	:Ana komponent Analizi
PIC	:Polimorfizm Bilgi İçeriği
RAPD	:Random Amplified Polymorphic DNA- Rastgele Çoğaltılmış DNA farklılığı
QTL	:Kantitatif Özellik Lokusu
SNP	:Single Nucleotide Polymorphisms–Tek Nükleotit Polimorfizmi
SSR	:Simple Sequence Repeats- Basit Dizi Tekrarı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Seçilmiş markerlerin bulk DNA'lar kullanılara testlenmesin ait jel görüntüleri	24
Şekil 4.2. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-1-106'ya ait jel görüntüsü	28
Şekil 4.3. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-1-121 'e ait jel görüntüsü	28
Şekil 4.4. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-4-165 'e ait jel görüntüsü	28
Şekil 4.5. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-5-157 'e ait jel görüntüsü	30
Şekil 4.6. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-7-143' e ait jel görüntüsü	30
Şekil 4.7. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-8-223'ya ait jel görüntüsü	30
Şekil 4.8. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-8-178'e ait jel görüntüsü	31
Şekil 4.9. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-9-128' e ait jel görüntüsü	31
Şekil 4.10. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-12-124'e ait jel görüntüsü	32
Şekil 4.11. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-1-192'ye ait jel görüntüsü	32
Şekil 4.12. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-3-248'e ait jel görüntüsü	33
Şekil 4.13. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-4-120'ye ait jel görüntüsü	33
Şekil 4.14. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-6-251'e ait jel görüntüsü	34
Şekil 4.15. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-9-179'a ait jel görüntüsü	34

Şekil 4.16. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-10-168'e ait jel görüntüsü	35
Şekil 4.17. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-10-112'ye ait jel görüntüsü	35
Şekil 4.18. Temel koordinat analizi (PCoA) sonucu genotiplerin birbirinden ayrılması	37



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışma kapsamında dizilemede kullanılan genotipler ve orijinleri	11
Çizelge 3.2. Tez kapsamında markerlerin testlenmesinde kullanılan PCR programı	13
Çizelge 3.3. Tez kapsamında markerlerin testlenmesinde kullanılan PCR bileşenleri	13
Çizelge 4.1. Genomda 2 bp ve üzeri InDellerin dağılımı	17
Çizelge 4.2. 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip InDel sayıları ve genomdaki dağılımları	18
Çizelge 4.3. Genom boyunca belirlenmiş 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip İnsersiyon (ekleme) bölgeleri.....	19
Çizelge 4.4. Genom boyunca belirlenmiş 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip delesyon (silme) bölgeleri	20
Çizelge 4.5. Tez kapsamında seçilen 8 bp üzeri büyüklüğüne sahip Indel markerler	22
Çizelge 4.6. Genetik çeşitliliği belirlenmesinde kullanılan Indel markerler ve susam genotipleri.....	27
Çizelge 4.7. Indel markerlere ait genetik parametreler.....	36
Çizelge 4.8. PC koordinatı yüzdesel değerleri	38

1. GİRİŞ

Pedaliaceae familyasından olan susam (*Sesamum indicum* L.) tohumlarında ihtiva ettiği yüksek miktar ve kalitedeki yağı ile dünyada kültürü yapılan en eski ve en önemli yağ bitkilerinden birisidir. İçinde bulunduğu *Sesamum* cinsi yaklaşık 16 cins ve 60 türü bünyesinde bulundurmakta olup susam kültürü yapılan tek türdür. Susam tek yıllık bir bitki olup Hindistan, Myanmar, Sudan ve Çin başta olmak suretiyle dünyanın tropik ve subtropik iklim kuşaklarına (40°K - 40°G) (Ashri 2007) sahip birçok yerinde kültürü yapılmaktadır. Arkeolojik kayıtlara göre yetiştirilmeye yaklaşık 5000 yıl önce Hindistan'da başlanmıştır (Bedigian 2004). Susam tohumları %50'den, hatta bazen %60'tan fazla yağ içermektedir (Yermanos vd. 1972). Susam yağı içerisinde diğer bitkisel yağlardan farklı olarak her birinin oranı yaklaşık %35-45 arasında değişen oleik ve linoleik asit yer almaktadır (Liu vd. 1992). İçerisinde bulundurduğu yüksek protein ve antioksidanlar susamı önemli kılan diğer özelliklerdir. Susam bitkisinin kökenin Afrika ya da Asya olduğu konusu ise tartışmalıdır (Joshi 1961; Weiss 1971; Nayar ve Mehra 1970; Brar ve Ahuja 1979; Bedigian 1981; Bedigian ve Harlan 1986; Bedigian vd. 1985; Nayar 1995). Birçok yabani türün Afrika'da olması ve yakın akraba olan *S. malabaricum* türünün Asya kökenli olması tartışmanın temel noktasını oluşturmaktadır (Ashri 2007).

Dünya üzerinde yaklaşık olarak ekim alanı 12 milyon ha olan susamın en fazla ekiliş alanına sahip ülkeleri sırasıyla yaklaşık 6 milyon ha ile Sudan, 1.8 milyon ha ile Hindistan ve 1.5 milyon ha ile Myanmar'dır. Dünyada en fazla üretime sahip ülkeler ise Myanmar 768758 ton ile ilk sırada, 746000 ton ile Hindistan ikinci sırada, 255522 ton ile Sudan ve Nijerya üçüncü sırada yer almaktadır (FAO 2018). Ülkemiz susam üretim miktarı ise her geçen yıl azalmakla birlikte yaklaşık 25981 hektar alanda 17 bin tonluk üretim yapılmaktadır (FAO 2018).

Susam, genellikle yüksek nem koşullarında 2 m'ye kadar boylanabilen tek yıllık bir kültür bitkisidir. Tropik ve subtropik iklim koşullarına oldukça uyumludur. Indeterminant yapısından dolayı mevsim ilerledikçe ve yetiştiği koşullar uygun olduğu takdirde bitki sürekli çiçek açar ve kapsül bağlar. Dallanma bitkinin genetik yapısına ve çevre koşullarına göre değişebilmektedir. Bazı tiplerde çok ya da az sayıda dal bulunmakla birlikte hiç dal bulundurmayan tiplerde vardır. Kapalı kapsüllü ve çatlayan kapsüllü olarak 2 farklı tipi bulunan bir bitkidir ancak kapsülü çatlamayan çeşitlerin verimlerinin düşük olması ve sürdürülebilir tarım için uygun olmamaları nedeniyle dünyada daha çok kapsülü çatlayan çeşitlerin kültürü yapılmaktadır. Büyüme süresi genellikle 3-4 ay arasında değişmektedir. Ekimden 30-40 gün kadar sonra çiçeklenme başlar ve bitki olgunluğa erişene kadar devam eder. Susam olgunlaşma süresinin kısa olması, toprak seçiciliğinin az olması, kuraklığa dayanıklılık karakterine sahip olması sebebiyle önemli bir bitkidir. Dünyada ve Türkiye'de farklı çevre koşullarına uyum sağlamış, fazla miktarda susam varyeteleri ve ekotipleri var olmaktadır. Mevcut olan bu varyete ve ekotipler çok sayıda genotipin bir araya gelerek oluşturduğu popülasyonlar halinde bulunurlar. Bu popülasyonlardan tek ve toplu bitki seleksiyonuna dayalı ıslah çalışmaları ile üstün özellikli susam çeşitleri günümüze kadar geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam edilmektedir. Ancak kültürü yapılan en eski bitkilerden biri olmasına rağmen üretim alanı diğer yağlı tohum bitkilerine kıyasla oldukça azdır (FAO 2018). Dünyada susamda yapılan ıslah çalışmaları sınırlı sayıda olup ülkemizde ise bu

oran daha da kısıtlıdır. Islahı yapılmış bitkiler elde edilmesine karşın genelde adaptasyon gücü yüksek yerel çeşitler tercih edilmiştir (Baydar vd. 1999).

İnsanların susam ve içeriklerini kullanmasının birçok nedeni vardır. Özellikle tohumlarında bulunan %60 yağ susam yağını oldukça farklı kılmaktadır. Hatta bazı tiplerde bu yağ oranı %62.7'ye kadar çıkabilmektedir (Uzun vd. 2007; 2008). Tohumların yapısında önemli antioksidanlardan olan sesamin, sesamol, sesamolin ve sesaminol antioksidanlarını bulundurur (Yoshida ve Takagi 1997) ve bu maddeler susam yağını oksitlenmeye karşı da oldukça dirençli hale getirir (Baydar 2005). Özellikle sesamin insan ve farelerde kan kolesterol seviyelerini düşürmede oldukça etkilidir. Aynı zamanda, susam ve içeriklerinin tüketilmesi ile kan plazmasında E vitamini konsantrasyonunda artış ilişkisi gözlemlenmiş olup (Frank 2005) antitumör (Kaur ve Saini 2000) ve antikanserojen (Kapadia vd. 2002) etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Diğer bir antioksidan olan sesamolinin ise kan kanseri hücrelerinin gelişimini engellediği ortaya konmuştur (Ryu vd. 2003). Susam yağının avantajlarından bir diğeri içerisinde bulundurduğu tokoferol antioksidanıdır. Susam yağında bulunan tokoferol miktarı 294-528 mg/kg arasındadır (Yoshida ve Takagi 1997). Bunlara ilaveten susam yapısında triptofan, kalsiyum, metiyonin ve çok sayıda mineral madde bulundurmaktadır. (Johnson vd. 1979). Susamın tüm bu özelliklerinin yanı sıra insan beslenmesinde de önemli bir rolü vardır. Susam yağı yemeklik olarak direkt sıvı halde kullanılabilirken margarin, merhem ve krem yapımında da kullanılmaktadır. Ayrıca tohumları doğrudan simit, kek, çörek, pasta gibi hamur işlerinde veya şekerleme yapımında tercih edilmektedir. Susam tohumları kavrulup kabuklarından ayırt edildikten sonra preslenerek tahin yapılır ve yağı alınan tohumlardan geri kalan kısmı ise kaliteli bir hayvan yemi olan küspe olarak kullanılır. Küspe değerli bir hayvan yemidir ancak bazı ülkelerde ekmeğe karıştırılarak kullanılmaktadır (Atakışi 1999). Susamın insan ve bitki patojenlerine karşı da koruyucu bir etkisi olduğu bilinmektedir (Costa vd. 2007). Susam bitkisinin farklı kısımlarından çıkarılan özütlerin *Macrophomina phaseolina* ve *Fusarium oxysporum* gibi toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimini negatif bir şekilde etkilediği gözlenmiştir (Hernan ve Laurentin 2007). Ayrıca sorgum ile münavebeli yetiştirildiğinde susamın Striga türü gibi bazı kök parazitlerine karşı da olumlu etkisi görülmüştür (Hess ve Dodo 2004). İçeriğinde muhteva ettiği antioksidanlar ve diğer maddeler susamın antiseptik, bakterisit, virüsit, dezenfektan ve tuberkular ajan olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır (Bedigian vd. 1985). Bunlara ek olarak susamla beslenmenin cinsiyet hormonları, antioksidan durumları ve postmenopozal dönemdeki kadınların kan yağ oranları üzerinde olumlu bir etkisinin olduğu ifade edilmiştir (Wu vd. 2006).

Susam kültürü yapılan en eski bitkilerden biri olmasına rağmen üretim alanı diğer yağlı tohum bitkilere kıyasla oldukça azdır (FAO 2018). Bunun başlıca sebepleri mekanize olmayan hasat, bitkilerin eş zamanlı hasada gelmemeleri, hasat vaktinde oluşan tohum kayıpları, düşük çevre adaptasyonu ve düşük verim olarak değerlendirilebilir (Ashri 2007). Ayrıca son zamanlarda sıkça görülen phyllody hastalığı susamda yüksek verim kayıplarına neden olmaktadır (Ustun vd. 2017). Bahsi geçen sorunların çözümü adına izlenecek önemli yolların başında doğru ıslah programlarının oluşturulması gelmektedir. Bu ıslah programlarına moleküler destekli seleksiyonun eklenmesi ise ıslah sürecinin kısaltmak ve doğru sonuçların elde edilmesi adına oldukça kıymetlidir. Susamda farklı genetik kaynaklar kullanılarak RAPD (Bhat vd. 1999),

AFLP (Laurentin ve Karlovsky, 2006), SSR (Zhang vd 2012; Wei vd. 2014; Dossa vd. 2017) ve InDel markerler (Wei vd. 2014; Wu vd. 2014) geliştirilmiş ve çeşitli ıslah programlarında kullanılmıştır. Ancak diğer endüstriyel bitkiler ile kıyaslandığında geliştirilen marker sayısı oldukça kısıtlıdır. Bu noktadan yola çıkılarak bu tez çalışmasında FBA-2018-3018 nolu araştırma projesinden elde edilen yeni nesil dizileme verileri kullanılarak InDel markerlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. İçerisinden dört ayrı kıtadan genotiplerin yer aldığı bu geniş koleksiyondan geliştirilecek markerlerin dünya üzerinde farklı populasyonlarda başarılı ile uygulanma ihtimali oldukça yüksektir. Geliştirilecek bu markerlerin susamda genetik çeşitlilik, seleksiyon ve genetik haritalama çalışmalarında kullanılması beklenmektedir.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Yeni Nesil Dizileme Verileri Kullanılarak InDel Markerlerin Geliştirilmesi ve Kullanılması İle İlgili Çalışmalar

Moleküler markerler bir popülasyonda veya gen havuzunda bir genin allelleri arasındaki polimorfizmi saptamak için kullanılabilen DNA parçacıklarıdır. Kısaca farklı bireyler arasında polimorfizm gösteren DNA dizisinin küçük bir bölgesi olarak tanımlanabilir. Polimorfizm sağlayan bölgeler eklenmeler, silinmeler, yer değiştirmeler, duplikasyonlar gibi olaylardan meydana gelebilir (Filiz ve Koç 2011). Günümüzde DNA markerleri kullanılarak gen etiketleme, genetik haritalama, harita temelli tarımsal açıdan önemli genlerin belirlenmesi, dayanıklılık kaynaklarının ortaya konması, genetik çeşitlilik çalışmaları, filogenetik analizler ve seleksiyon çalışmaları yoğun şekilde yapılmaktadır (Joshi vd. 2000). En yaygın kullanılan markerlerden SSR veya mikrosatellitler, ökaryotik genomlar boyunca dağılmış ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. RAPD ise PCR bazlı bir işaretleme sistemidir. Bu sistemde, bir bireyin toplam genomik DNA'sı, tek, kısa (genellikle yaklaşık on nükleotid/baz) ve rastgele bir primer kullanılarak PCR ile çoğaltılır. Birçok farklı lokusa bağlanan primer, tamamlayıcı olan kompleks bir DNA şablonundan rastgele dizileri amplifiye için kullanılır. Amplifikasyon iki hibridizasyon bölgesi birbirine (en az 3000 bp) benzerse ve zıt yönlerde PCR sırasında gerçekleşebilir. SNP markerler için yeni nesil dizileme verilerine ihtiyaç olup ıslah sürecinde kullanılmak üzere bir okuma sonrası milyonlarca marker geliştirmek mümkündür. InDel (insertion-deletion) bölgeleri genom boyunca bol miktarda bulunan yapısal varyasyonlardır ve polimeraz kayması, transpozonlar, eşit olmayan crossing-over neticesinde meydana gelirler. Bazen organizmada fonksiyon kaybına yol açabilirler (Lovett 2004). En yaygın InDel durumları tek baz eklenme ve çıkarılması, delesyon ve monomerik ya da polimerik baz çiftlerinin eklenmesinden kaynaklanmaktadır. Bu markerler birçok populasyon genetiği, tanımlama, genetik haritalama çalışmalarında farklı bitkilerde kullanılmıştır (Wu vd. 2013; Yang vd. 2014)

InDel marker geliştirme ve markerlerin uygulanması bakımından yürütülen çalışma sayısı oldukça azdır. Wu vd. (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada Çin susam koleksiyonunda genetik çeşitlilik SSR ve InDel markerler ile belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmacılar 349 SSR ve 79 InDel markeri sahip oldukları 130 susam genotipi üzerinde kullanmışlar ve yapılan ön çalışmada 86 markerin polimorfik olduğu ifade edilirken markerlerin koleksiyonda genetik çeşitlilik, filogenetik ilişkiler, populasyon yapısı ve allel dağılım analizlerinde başarılı şekilde yer aldığını ifade etmişlerdir. Çalışma sonucunda 325 allel tespit edilmiş olup ortalama gen çeşitliliği 0.432 olarak belirlenmiştir. Model temelli yapı analizi, filogenetik kümeleme ve moleküler varyans analizi (AMOVA) sonuçlarına göre populasyonda iki ana ve beş alt grubun varlığı ortaya konulmuştur.

Wei vd. (2014) tarafından RNA-Seq yönteminin kullandığı çalışmada toplamda 33.4 Gbp'lik büyük bir okuma elde edilmiş ve okuma sonrası SNP ve InDel bölgeleri araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Araştırmacılar uzunlukları 1 ila 38 bp arasında değişen toplam 21 InDel tipi tanımlamış ve en çok kısa InDel (1-2 bp) varlığı tespit edilmiştir (%80). Ayrıca protein kodlayan bölgelerde 4959 (%66.56) SNP saptamışlardır. Rasgele seçilen 40 SNP ve 40 InDel markerden SNP'lerin %92.5'i ve

InDel markerlerin %95.0'i polimorfizm göstermiştir. Ayrıca, yeni geliştirilen polimorfik SNP ve InDel markerlerinin etkinlikleri 36 ticari susam çeşidinde değerlendirilmiş ve markerlerin % 90'dan fazlası beklenen polimorfik amplifikasyonları ortaya koymuştur.

Yamaki vd. (2013) *Oryza* cinsindeki genom türlerinin ayırt edilmesini sağlayan InDel marker geliştirmeyi amaçlayan bir çalışma ele almışlardır. İlk olarak veritabanlarında mevcut olan 12 *Oryza* türü için tarama yapılmış ve potansiyel 2107 InDel aday dizisi bulmuşlardır. Araştırmacılar daha sonra sahip oldukları yabani türleri seçmiş oldukları InDel markerler ile taramışlardır. Çalışma sonucunda farklı türleri birbirinden ayırt edilmesini mümkün kılan 22 InDel marker belirlenmiştir.

Song vd. (2015) Çin'in yerel soya fasülyesi çeşitleri olan Hedou 12 ve Williams 82'yi yeni nesil dizileme verileri kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar Hedou 12 ve Williams 82 referans dizisi arasında 49276 InDel polimorfizmi ve 242059 tek nükleotid polimorfizmi tespit etmişlerdir. Tespit edilenler arasından doğrulama için 5-50 bp arasında değişen 243 aday InDel markeri seçilmiş ve bu çeşitler arasında polimorfizm ortaya konulmuştur. Araştırmacılar ayrıca geliştirmiş oldukları InDel markerleri soyada kırışık yaprak karakterini genetik haritalanmasında kullanmışlar ve başarılı bir haritalama yapmışlardır. Araştırma sonucunda yüksek verimli dizileme verilerinin soya fasülyesinde genetik haritalama için yüksek kalitede marker geliştirmede oldukça etkin olduğu ortaya konmuştur.

Wei vd. (2016) iki susam çeşidini (Baizhima ve Mishuozhima) tüm genom olarak dizilemişler ve de novo assembly ile sırasıyla 267 ve 254 Mb büyüklüğünde iki draft genom elde etmişlerdir. Toplamda yaklaşık 1.3 milyon SNP ve 506 bin InDel belirlenmiştir. Ortaya konulan bu varyantlardan yaklaşık 70 bin SNP ve 8311 InDel gen kodlayan bölgelerde tespit edilmiştir. Bu varyantların susamda çiçeklenme tarihi, bitki boyu ve yağ içeriği gibi önemli karakterlerin genetik altyapısının belirlenmesine katkıda bulunacağı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

Osorio vd. (2017) sarı acı bakla genetiği ve ıslahına yardımcı olmak için yeni polimorfik InDel markerleri üretmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada genomik veriler kullanılarak polimorfik InDel markerleri geliştirmişlerdir. Analizler sonucundan toplam 118 InDel polimorfik olarak tespit edilmiştir. 18 InDel primer seti bir çekirdek koleksiyon üzerinde değerlendirilmiştir. Gözlenen heterozigosite (HO; 0.0648 ila 0.5564) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC, 0.06 ila 0.48) koleksiyonda orta düzeyde bir genetik varyasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak InDel markerlerin geliştirilmesinin *L. luteus* popülasyonları ve yakın ilişkili türler arasında genetik çeşitliliğin çalışılmasını kolaylaştıracağı belirtilmiştir.

Wanga vd. (2018) ele aldıkları çalışmalarında öncelikle 56 soya genotipe ait verileri kullanarak 17613 InDel bölgesi tespit edip 12619 primer çifti geliştirmişlerdir. İkinci olarak, 2841 primer çiftini kullanarak bir linkage haritası araştırmacılar tarafından oluşturulmuş ve 20 linkage grubu elde edilmiştir. Oluşturulan haritada toplam genetik mesafe 2347.3 cM ve LG başına düşen haritalanmış marker 10 ila 23 arasında değiştiği ifade edilirken ve ortalama 15 marker olduğu bildirilmiştir. Bitişik markerler arasındaki en büyük ve en küçük genetik mesafeleri sırasıyla 52.3 cM ve 0.1 cM olarak gözlemlenmiştir. Araştırmacılar daha sonra geliştirmiş oldukları haritayı kullanılarak çiçeklenme gün sayısı karakterini haritalamışlardır. Karakter bir QTL olarak ortaya

konulmuş olup bir büyük (qDTF4) ve dört küçük QTL (qDTF20, qDTF13, qDTF12 ve qDTF11) bölge tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından ortaya konulan sonuçlar soya fasulyesinde haritalama işlemlerinde InDel markerlerin kullanabileceğini ortaya koymuştur.

Jain vd. (2019) nohutta genom destekli ıslah için marker kaynaklarını genişletme hedefi ile spesifik olmayan (ICC 4958 × PI 489777) beş ana hattı ve iki intra-spesifik (ICC 283 × ICC 8261 ve ICC 4958 × ICC 1882) haritalandırma popülasyonunu kullanarak InDel marker geliştirme çalışması ele almışlardır. Varsayılan parametrelere sahip yazılım kullanılarak toplam 231658 adet InDel tanımlamışlardır. Ayrıca, jel bazlı markörlerin geliştirilmesi için ≥ 20 bp boyutunda toplam 8.307 InDel seçilmiş; 7523 (%90.56) bölge için primer tasarlanmıştır. Ortalama olarak, CaLG04 (1.952 InDel) üzerinde maksimum ve CaLG08 (360 InDels) üzerinde ise minimum marker sayısı belirlenmiş olup her bir linkage grubunda ortalama 1038 InDel tanımlanmıştır. Doğrulama yapmak amacıyla toplam 423 primer çifti rastgele seçilmiş, seçilen ana hatlar üzerinde test edilmiş ve %3'lük agaroz jelde ebeveynler arasında %46.06 ila %58.01 arasında bir polimorfizm gözlenmiştir.

2.2. Susamda Moleküler Markerler Kullanılarak Yapılan Genetik Çeşitlilik Çalışmaları

Bhat vd. (1999) yaptıkları çalışmada susam bitkisinde genetik çeşitliliği 58 RAPD markeri kullanarak belirlemeye çalışmışlardır. Analiz edilen materyal Hindistan'ın 18 farklı eyaletinden ve Hindistan alt kıtasının dört komşu ülkesinden 36 koleksiyon ve 21 ülkeden 22 egzotik susam genotipini içermektedir. Genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla seçilen 24 rastgele 10-mer primer ile PCR amplifikasyonlarından elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Jaccard'ın benzerlik katsayılarının değeri 0.19 ile 0.89 arasında değişmiş ve sonuçların yüksek seviyede genetik çeşitliliğin varlığını gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte Hint kökenli genotiplere ait genetik varyasyonun egzotik hatlara göre çok daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Temel bileşen analizi, ilk iki bileşenin toplam varyasyonların sadece %21'ini oluşturduğunu ve varyasyonların <% 75'ini açıklamak için 18 bileşenin gerekli olduğunu göstermiştir.

Laurentin ve Karlovsky (2006) 5 gen merkezinden (Hindistan, Afrika, Çin-Kore-Japonya, Orta Asya ve Batı Asya) genotiplerin yer aldığı susam koleksiyonunu AFLP marker kullanarak karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar % 93'ü polimorfik olan toplam 457 AFLP markerin kaydedildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Jaccard benzerlik katsayısı genotip çiftleri arasında 0.38 ile 0.85 arasında değişmiştir. UPGMA dendrogramı 32 genotipten 25'ini iki güçlü kümede gruplandırmıştır, ancak genotip ile coğrafi köken arasında bir ilişki olmadığını ortaya koymuştur. Dendogram boyunca temel koordinat analizi kullanılarak benzer bir model elde etmişlerdir. Moleküler varyans analizi (AMOVA) ile toplam çeşitliliğin sadece %5'i gruplar arasındaki farklılıklara bağlanmıştır.

Laurentin ve Karlovsky (2007) ele aldıkları çalışmada AFLP markeri 20 susam çeşidini ayırt etmek ve bu genotipler arasındaki genetik ilişkiyi aydınlatmak amacıyla kullanmışlardır. Araştırmacılar 8 primer kombinasyonu kullanarak toplam 339 marker elde etmişlerdir. Bantların %91'i polimorfik olup 5 primer kombinasyonunun kullanılan 20 çeşidin hepsini ayırt edebildiği tespit edilmiştir. Ancak kalan 3 primer

kombinasyonunun tek başına kullanıldığında genotipleri ayırt edemediği gözlemlenmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC), çözme gücü (Rp) ve her bir primer kombinasyonunun marker indeksi (MI) genotip sayısı ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Jaccard'ın benzerlik katsayıları 0.31 ile 0.78 arasında değişmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar AFLP markerlerinin çeşitlerin tanımlanmasında ve genetik değişkenliğinin değerlendirilmesinde kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Ali vd. (2007) ele aldıkları çalışmada coğrafi kökenler ve morfolojik özellikler ile ilgili genetik çeşitliliğin seviyesini belirlemek için dünyanın farklı bölgelerinden toplam 96 hat toplamış ve hatları AFLP markeri kullanarak karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar 21 primer çiftinin toplam 445 bant ürettiğini ve aralarında 157 (%35)'sinin polimorfik olduğunu birdirmişlerdir. Benzerlik katsayısına dayanan UPGMA kümeleme analizi yöntemi kullanılarak hatları iki ana gruba ayırmışlardır. İlk grup çoğunlukla Doğu Asya kökenli diğer grup ise Güney Asya kökenli genotiplerden oluşmuştur. Analizler sonucunda araştırmacılar alt kümelerin hatları ayırdığını ve gruplar arasında belirgin bir çeşitlilik oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

Pham vd. (2009) susam koleksiyonunda genetik çeşitliliği tahmin etmek amacıyla Vietnam ve Kamboçya'dan toplanan 22 susam çeşidini 10 RAPD marker kullanarak analiz etmişlerdir. Çalışmada 107 bant elde edilirken, 86 tanesi polimorfik bulunmuştur. Tüm popülasyonların genetik çeşitliliği, Nei parametreleri tarafından tahmin edildiğinde $H_t = 0.34$ olarak belirlenmiştir. Genetik uzaklık 0.03 ile 0.43 arasında bir değer gösterirken ortalama genetik uzaklık 0.23 olarak belirlenmiştir. Oluşturulan dendrogram coğrafi bölgelerine göre susam hatları arasında net bir ayırım olduğunu ayrıca ortaya koymuştur.

Kumar ve Sharma (2009) Hindistan'ın farklı tarımsal ekolojik bölgelerini temsil eden yirmi susam genotipinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek için fenotipik ve moleküler belirteçler (RAPD) arasında bir karşılaştırma yapmışlardır. Araştırmacılar 20 fenotipik belirteç temelinde daha yüksek bir genetik benzerlik aralığı (0.88-0.99) gözlemlemişlerdir. RAPD bazlı dendrogramda genotipler morfolojik belirteçlere göre rastgele bir gruplama olduğu gözlenmiştir. Ortalama genetik farklılaşma katsayısı (G_{st} 0.619), popülasyon arasında yüksek genetik çeşitlilik seviyesini ve popülasyon içindeki düşük genetik çeşitlilik düzeyini göstermiştir.

Sharma vd. (2009)'da RAPD ve ISSR markerlerini 16 susam genotipinin karakterizasyonu için kullanmışlardır. 26 RAPD ve 17 ISSR primerleri ile 16 susam genotipi arasında sırasıyla 194 ve 163 net ve tekrarlanabilir bant elde edilmiştir. Hem RAPD hem de ISSR primerleri maksimum ayırım gücü göstermiş ve tüm susam genotiplerinin tanımlanması için ayrı ayrı kullanılabilecek olan bantlar üretilmiştir. Ayrıca genotiplerin ayırt edilmesinde AG ve CA bazlı ISSR primerleri etkili olduğu bulunmuştur. RAPD ve ISSR primerleri tarafından üretilen matrisler arasında zayıf bir korelasyon gözlemlenmiştir. Bununla birlikte susam genotipleri (RAPD için 0.78 ve ISSR için 0.71) arasında daha fazla benzerlik olsa da gözlenen genetik çeşitliliğin (RAPD için 0.22 ve ISSR için 0.29) susam genotiplerinin karakterizasyonu için etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Cho vd. (2010) tarafından yapılan araştırmada 22 ülkeden toplanan 150 susam genotipi arasındaki genetik çeşitlilik, filogenetik ilişki ve popülasyon yapısı polimorfik

mikrosatellit (SSR) markerleri ile belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada PCR'lar ve analizler sonrası susam genotipleri arasında toplam 121 allel olduğu tespit edilmiştir. Allel sayısı lokus başına ortalama 7.6 allel olarak bulunurken en yüksek 18 ve en düşük olarak 2 değerleri elde edilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği değerleri ortalama olarak 0.42 olarak bulunmuş ve 0.03 ile 0.79 arasında değişmiştir. SSR'lerin ortaya koyduğu geniş çeşitlilik DNA düzeyinde yüksek polimorfizm seviyesini yansıtmıştır. Model tabanlı yapı analizi genetik mesafeye dayalı kümeleme sonuçlarıyla üç grubun varlığını göstermiştir.

Parsaeian vd. (2011) ele aldıkları çalışmalarında 18 susam genotipi arasındaki genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Morfolojik veriler kullanılarak yapılan küme analizinde genotipler beş ayrı kümeye ayrılmıştır. Küme içi mesafeler farklı grupların farklı genotipleri arasında daha yüksek genetik değişkenlik olduğunu göstermiştir. Moleküler analizler için seçilen 13 ISSR primerinde 170 bant bulunmuş, bunlardan 130'u (%76.47) polimorfik olup bu veriler kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur.

Kumar vd. (2011) Hindistan'ın farklı coğrafi bölgelerini temsil eden ticari olarak ekilmiş 20 susam genotipi arasındaki genetik çeşitliliği ve ilişkileri belirlemek için fenotipik verileri, ISSR ve SSR markerlerini kullanmışlardır. Morfolojik tanımlayıcılar kullanılarak karışık kümelemeye sahip dar bir genetik farklılık (0.01-0.12) aralığı gözlemlemişlerdir. Markerler ile yürütülen çalışmada ISSR primerleri ile %57 polimorfizmi olan toplam 279 bant elde edilirken SSR primerleri ile %73 polimorfizm elde edilmiştir. Araştırmacılar yüksek ayırım gücüne sahip olan ISSR primerlerinin genotip-spesifik bantlar ürettiğini ve bu çalışmada kullanılan tüm susam genotiplerini ayırt ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca UPGMA dendrogram ve PCA analizi ile fenotipik veriler arasında zayıf bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak SSR ve ISSR markerlerinin genotip tanımlaması ve susam genotipleri arasında genetik ilişkilerin kurulması için güçlü bir araç olduğu bildirilmiştir.

Surapaneni vd. (2014) ele aldıkları çalışmada SSR markerleri kullanarak Hint susam çeşitlerinin ve ilgili yabancı türlerin genetik karakterizasyonunu ele almışlardır. SSR primerlerinin kullanıldığı çalışmada 68 susam genotipi ve üç ilgili yabancı türün karakterizasyonu 170 allelin saptanmasıyla sonuçlanmıştır. Ayrıca alellerin sayısı, lokus başına ortalama 2.5 allel olarak bulunurken minimum-maksimum sayılar 2 ile 4 arasında değişmiştir. UPGMA kümeleme analizi tüm çeşitleri 0.40 ile 0.91 arasında değişen genetik bir benzerliğe sahip iki ana kümede gruplandırmıştır. Araştırmacılar orta ile yüksek düzeyde bir genetik değişkenlik gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan üç yabancı genotip ayrı bölümler oluşturmuş ve çeşitler ile yabancı türler arasında uzak genetik ilişkiler gözlemlemişlerdir. Yapılan araştırmada coğrafi bölgelere göre genotiplerin farklılaşması gözlenmemiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA), popülasyonlarda (%87.1) yüksek bir varyasyon yüzdesinin olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunda elde edilen verilerin gen haritalama ve gelecekteki ıslah programlarında ebeveyn seçiminde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Wei vd. (2014) basit dizi tekrarı (SSR) markerleri geliştirmek ve susam germplazmında genetik çeşitliliği tespit etmek amacıyla genomik temelde yürütülen çalışmalarını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar genom taraması sonrası susam genomundan 23438 SSR tanımlamışlardır. Ayrıca en sık tekrarlanan motifleri %84.24

sıklıkta dinükleotid, ardından %13.53 trinükleotit, %1.65 tetranükleotit, %0.3 pentanükleotit ve % 0.28 heksanükleotit motifleri olarak bildirmişlerdir. Çalışmada 218 polimorfik SSR 12 ülkeden 31 susam genotipini taramak için kullanılmıştır. PCoA ve filogenetik analizleri sonucunda tüm susam genotiplerinin iki gruba ayrılabilceğini gözlemlemişlerdir. Araştırmanın sonucunda bu yeni SSR markerlerin genetik bağlantı haritası yapımı, genetik çeşitlilik tespiti ve marker destekli susam ıslahı için kullanışlı bir araç olduğunu bildirmişlerdir.

Singh vd. (2015) Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanmış ticari olarak yetiştirilen 44 susam genotipi arasındaki genetik varyasyonu incelemek adına üç tip moleküler marker (RAPD, ISSR ve SSR) kullanmışlardır. Bu çalışmada hem RAPD hem de ISSR markerlerinde yüksek düzeyde polimorfizm tespit edilmiştir. RAPD analizlerinde 279 banttan 120'si (%43.01), ISSR analizlerinde 183 banttan 164'ü (%89.61) polimorfik olarak belirlenirken 12 SSR primeri 41 farklı bant üretmiştir. Her iki genetik benzerlik veri kümesi arasında zayıf bir korelasyon ($r=0.107$) bulunmuştur. 44 susam genotipinin tamamının RAPD, ISSR ve SSR markerler ile ayırt edilebileceği çalışmada ortaya konmuştur.

Pandey vd. (2015) tarafından yapılan yürütülen çalışmada 60 genotipin hem kantitatif hem de kalitatif özelliklerini tanımlanmıştır. Çeşitleri farklı gruplara ayırmak için çok değişkenli analizler yapılmış olup 36 mikrosatellit marker genetik çeşitliliği moleküler seviyede belirleme amacıyla seçilmiştir. Başlangıçta 36 mikrosatellit marker seçilmiş olmasına rağmen genotipler arasında sadece 8 marker polimorfik olarak belirlenmiştir. 60 genotip içinde lokus başına ortalama 3.37 allel olup toplamda 27 allel tespit edilmiştir. Allellerin sayısı 2 ila 6 allel arasında kaydedilmiştir. Araştırmacılar mikrosatellit işaretleyicilerinden elde edilen verilerden Jaccard yöntemini kullanarak çeşitler arasındaki farklılık katsayılarını hesaplamışlardır. Susam genotiplerinin morfolojik ve moleküler markere dayalı küme analizi ile iki ana grupta sınıflandırmışlardır. Mantel testi ile fenotipik ve moleküler marker bilgisi arasında önemsiz bir korelasyon olduğu ayrıca bildirilmiştir.

Dossa vd. (2016) ele aldıkları çalışmada coğrafi bölgelerle ilgili genetik çeşitliliği belirlemek için Afrika ve Asya'da altı coğrafi bölgeye dağılmış 22 ülkeden toplanan 96 susam aksesyonunu 33 polimorfik SSR markeri kullanarak genotiplemişlerdir. Asya'dan getirilen genotiplerin, Afrika'dan getirilen genotiplerden daha fazla çeşitlilik gösterdiği görülmüştür. Güney Asya, Doğu Asya ve Batı Afrika'dan toplanan genotipler oldukça fazla çeşitlilik gösterirken, Batı Asya, Kuzey Afrika ve Güneydoğu Afrika'dan gelenlerin ise en düşük çeşitliliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Moleküler varyans analizi yapıldıktan sonra genetik varyansın % 44'ünden fazlasının coğrafi bölgeler arasındaki çeşitlilikten kaynaklandığı görülmüştür. Filogenetik, PCA ve yapı analizleri ile Asya'da üç, Afrika'da iki olmak üzere beş alt popülasyon tanımlanmıştır. Çoğu genotipin coğrafi kökenlerine göre aynı popülasyonda toplandığı görülmüştür.

Dar vd. (2017)'de Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanmış 47 farklı susam genotipini genetik varyasyonu incelemek adına 22 RAPD ve 18 SSR marker ile testlemişlerdir. Bu çalışmada RAPD primerleri 191'i polimorfik olan toplam 256 bant, SSR primerleri ise hepsi polimorfik olan 64 DNA bant vermiştir. RAPD'lere (0.186) kıyasla SSR'ler (0.194) için maksimum polimorfik bilgi içeriği rapor edilmiştir. RAPD

markerlerde (1.426), SSR markerlere (0.621) göre daha yüksek marker indeksi gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, RAPD (4.012) markerlerin SSR'lerden (0.884) daha fazla çözme gücüne sahip olduğu bulunmuştur. RAPD primer RPI-B11 ve SSR primer S16 'nın incelenen çeşitler arasındaki genetik değişkenliği açıklamada en bilgilendirici markerler olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca moleküler seviyede tohum kabuğu rengi bir grup marker amplikonun varlığı ve yokluğu ile ayırt edilmiştir. Beyaz ve kahverengi renkli tohumlar birbirine yakın kümelenmiş siyah tohumlar kümeden uzak kalmıştır.

Iqbal vd. (2018) çalışmalarında NCBI veritabanından elde ettikleri dizi verilerini kullanarak geliştirdikleri markerleri dünyanın farklı eko-coğrafi bölgelerine ait 70 genotip arasındaki genetik çeşitliliği belirleyebilmek amacıyla değerlendirmişlerdir. Yeni geliştirilen markerlerden 35'i (% 15) genotiplerde polimorfizm göstermiş ve toplamda 151 allel elde edilmiştir. Araştırmacılar polimorfik bilgi içeriğinin (PIC) 0.36 ile 0.82 arasında değişmekte olup ortalamanın 0.61 olduğunu bildirmişlerdir. NJ analizi 5 ana grubu ortaya çıkarmış ve kümelenmenin coğrafi kökenden bağımsız olduğunu görülmüştür. UPGMA kullanılarak morfolojik özellikler bakımından 70 genotip dört ayrı kümeye ayrılmış ve kümeleme paterni moleküler markelere göre farklılık göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Genetik materyal

Tez kapsamında kullanılmış olan genetik veriler Yol ve Uzun (2012) tarafından geliştirilen Akdeniz Susam Kor Koleksiyonunda yer alan 95 genotipin dizilemesi (Basak vd. 2019) ile elde edilmiştir. 4 farklı kıtadan köken alan genotipler Çizelge 3.1’de verilmiştir. En fazla genetik materyal ile temsil edilen ülke 16 genotip ile Türkiye olurken İran ve ABD kökenli sırasıyla 11 ve 10 genotip koleksiyonda yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Çalışması kapsamında dizilemede kullanılan genotipler ve orijinleri

Genotip	Orijin	Genotip	Orijin	Genotip	Orijin	Genotip	Orijin
ACS8	Afganistan	ACS76	İran	ACS187	Rusya	ACS356	Venezüella
ACS10	Afganistan	ACS80	İran	ACS189	Rusya	ACS358	Venezüella
ACS12	Afganistan	ACS81	İran	ACS191	Rusya	ACS359	Venezüella
ACS15	Afganistan	ACS86	İran	ACS193	G.Amerika	Özberk	Türkiye
ACS18	Afganistan	ACS87	İran	ACS194	G.Amerika	Muganlı	Türkiye
ACS19	Afganistan	ACS88	İran	ACS195	Sri Lanka		
ACS20	Angola	ACS91	Irak	ACS197	Suriye		
ACS21	Angola	ACS108	İsrail	ACS204	Türkiye		
ACS22	Arjantin	ACS109	İsrail	ACS215	Türkiye		
ACS24	Çin	ACS122	Japonya	ACS216	Türkiye		
ACS26	Çin	ACS134	G.Kore	ACS218	Türkiye		
ACS28	Çin	ACS137	G.Kore	ACS220	Türkiye		
ACS29	Çin	ACS139	G. Kore	ACS234	Türkiye		
ACS32	Çin	ACS141	G. Kore	ACS241	Türkiye		
ACS34	Çin	ACS145	Myanmar	ACS242	Türkiye		
ACS36	Çin	ACS152	Pakistan	ACS246	Türkiye		
ACS38	Çin	ACS153	Pakistan	ACS253	Türkiye		
ACS40	Çin	ACS155	Pakistan	ACS278	Türkiye		
ACS43	Mısır	ACS157	Pakistan	ACS285	Türkiye		
ACS46	Mısır	ACS158	Pakistan	ACS304	Türkiye		
ACS49	Yunanistan	ACS159	Pakistan	ACS325	ABD		
ACS51	Yunanistan	ACS163	Pakistan	ACS326	ABD		
ACS60	Hindistan	ACS164	Pakistan	ACS329	ABD		
ACS65	Hindistan	ACS168	Pakistan	ACS330	ABD		
ACS68	Hindistan	ACS174	Rusya	ACS331	ABD		
ACS70	İran	ACS179	Rusya	ACS335	ABD		
ACS71	İran	ACS181	Rusya	ACS337	ABD		
ACS72	İran	ACS182	Rusya	ACS344	ABD		
ACS73	İran	ACS183	Rusya	ACS348	ABD		
ACS74	İran	ACS186	Rusya	ACS353	ABD		

3.2.Metot

3.2.1. Yeni nesil dizileme

Tez çalışmasında InDel bölgelerinin belirlenmesinde 95 susam genotipinin dizilenmesinden elde edilen veriler kullanılmıştır. Verilerin hazırlanması temel olarak genotiplerin çimlendirilmesi ve takiben DNA izolasyonu (Doyle ve Doyle 1990) ile başlamakta ve her bir DNA için dizilemeye uygun kütüphanelerinin oluşturulması ile devam etmektedir. Kütüphane hazırlık aşamasında Peterson vd. (2012) tarafından önerilen double-digest RAD-Seq metodu kullanılmıştır. Burada genom reduksiyonu için *VspI* ve *MspI* restriksiyon enzimleri tercih edilmiş ve ardından 400-500 bp uzunluğundaki okumalar dizilemeye gönderilmiştir. Dizileme Illumina platformunda çift yönlü 150 bp olarak yapılmış ve toplamda 349.86 milyon baz ham okuma elde edilmiştir. Yeni nesil dizileme verileri FBA-2018-3018 nolu projeden elde edilmiş olup her bir genotipe ait yeni nesil dizileme verileri NCBI gen bankasında PRJNA560319 nolu aksesyon numarası ile raporlanmıştır.

3.2.2. InDel bölgelerinin belirlenmesi

Her bir genotipe ait yeni nesil dizileme verilerinin analizler öncesi barkod ve adaptörlerinden temizlenmesi gerekmektedir. Sıkıştırılmış dosya içinde bulunan her bir genotipe ait barkodlanmış veriler Je (Girardot vd. 2016) programı kullanılarak dışarı çıkarılmıştır. Daha sonra her bir fastq dosyasındaki adaptörler fastp (Chen vd. 2018) programı ile temizlenmiştir. Çift yönlü okumalar daha sonra referans genom “Zhongzhi13 V2.0” (Wang vd. 2016) ile eşleştirilmiş ve ardından oluşturulan freebayes programı ile her bir genotipe ait varyantlar belirlenmiştir. VCFilter (Galaxy Version 1.0.0) programı kullanılarak SNP verileri varyant dosyasından elemine edilmiş ve içerisinde sadece insersiyon (ekleme) ve delesyon (silme) bölgelerinin olduğu varyant dosyası oluşturulmuştur. Bu işlemin ardından excel dosyasında bp olarak büyüklükleri bakımından insersiyon ve delesyon bölgeleri sınıflandırılmıştır.

3.2.3. Primer dizaynı

Filtrelenmiş varyant dosyası referans genom ile eşlenme sonucu oluşan her bir genotipe ait bam dosyaları ile birlikte Integrated Genome Browser (Nowlan vd. 2016) programında ele alınmıştır. Böylece InDel bölgeleri hem valide edilmiş hem de primer dizaynı için referans genomda uç diziler görüntülenmiştir. Burada 8 ve üzeri bp büyüklüğündeki bazı InDel bölgeleri primer dizaynı için seçilmiştir. Böylece agaroz jelde ayırt edilebilir markerler seçilmiştir. Primer dizaynı Primer 3 (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) programı kullanılarak dizayn edilmiştir.

3.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (pcr, polymerase chain reaction) analizleri

Bu tez çalışmasında geliştirmiş olduğumuz markerler kullanılarak istenen gen bölgelerinde amplifikasyonu sağlamak amacıyla PCR analizleri yapılmıştır. Markerlerin doğrulanması amacıyla öncelikle her bir primer koleksiyon içerisinde rastgele seçilmiş bulk DNA’lar ile test edilmiştir. Tez kapsamında uygulanmış olan PCR tekniği (protokollü) çalışmada optimize edilerek en iyi sonucu veren solüsyon miktar ve

oranları belirlenmiştir. PCR uygulamaları için MyGenie-96 Gradient Thermal Cycler marka cihaz kullanılmıştır. Kullanılan PCR programı Çizelge 3.2’de ve PCR bileşenleri Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Tez kapsamında markerlerin testlenmesinde kullanılan PCR programı

PCR programı	
95°C	2 dakika 30 saniye
95°C	45 saniye
50°C	20 saniye
60°C	50 saniye
92°C	20 saniye
50°C	20 saniye
60°C	50 saniye
60°C	5 dakika

} 4 döngü
 } 30 döngü

Çizelge 3.3. Tez kapsamında markerlerin testlenmesinde kullanılan PCR bileşenleri

Bileşenler	Miktar (1X)
Dna (20 ng/μl)	1 μl
Taq buffer (10X)	1 μl
MgCl ₂ (25 mM)	1 μl
dNTP (10 mM)	0,3 μl
Primer (10 μM)	0,3μl
Taq polimeraz (5 u/μl)	0.2 μl
ddH ₂ O	16 μl

Yukarıdaki çizelgelerde belirtildiği gibi döngüler tamamlanmış ve PCR analizleri yapılmıştır. PCR’dan sonra PCR ürünleri elektroforez işlemine kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.5. Elektrolit çözeltisi

Elektroforezde tampon çözeltisi olarak Tris/Borate/EDTA (TBE) kullanılmıştır. Bu çözelti pH 8.3 olacak şekilde 10x yoğunluğunda hazırlanmış ve 1 lt suda çözündürülmüştür. Bu stok çözeltiden alınan 100 ml saf su ile 1 lt'ye tamamlanmış olup elektroforez için 1x'lik TBE tamponu hazırlanmıştır. Bu çözeltinin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve miktarları aşağıdaki gibidir;

- 54 g Tris base
- 27.5 g borik asit
- 40 ml EDTA (0.5 M, pH: 8.3)

3.2.6. Jelin hazırlanması

PCR'da elde edilen ürünlerin birbirinden ayırt edilebilmesi ve görsel olarak incelenebilmesi için agaroz jel elektroforezi kullanılmıştır. %2'lik olarak hazırlanan agaroz jel, TBE tampon çözeltisi ile bir erlen mayerde homojen bir karışım olması amacıyla ara sıra karıştırılarak mikrodalgada çözündürülmüştür. Bu işlem sırasında agarozun yanmaması için jelin kaynamasına izin verilmeden şeffaf bir görünüme ulaşmaya kadar (2-3 dk) ısıtılmış ve soğutulan 100 ml jel içine bantların UV ışık altında görülebilmesini sağlayan 5.0 µl Ethidium Bromide (10 mg/ml) eklenmiş ve jel kalıbına hava kabarcıklarının oluşmamasına özen göstererek dökülmüştür. Jel kalıbına DNA örneklerinin yüklenebilmesi için taraklar yerleştirilerek kuyucuklar oluşturulmuştur. Jel tamamen donduktan sonra taraklar yavaşça çıkarılıp elektroforez tankının içine alınmış ve üzerine jelin üst kısmını kapatacak kadar elektrolit çözeltisi (1x TBE) dökülmüştür.

3.2.7. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi ve elektroforez işlemi

Seçilmiş olan markerlerin validasyonu adına her bir primer için PCR sonucu elde edilen ürünlerden 10 µl alınmış ve 3 µl yükleme boyası eklenerek (bromophenylblue) toplamda 13 µl'lik PCR ürün+yükleme boyası karışımı %2'lik agaroz jele yüklenmiştir. Yaklaşık 40 dakika boyunca 70 voltta ürünler koşturulmuştur. Elde edilen bantların büyüklüklerini saptamak için ladder olarak Bioron 50 bp ve Bioron 100 bp kullanılmıştır. Oluşan bantlar UV ışık altında DNR-Minilumi cihazıyla görüntülenmiştir.

3.2.8. Fragment analyzer™ ile PCR sonrası analizlerin yapılması

32 genotipten oluşan susam koleksiyonu seçilmiş olan 16 marker ile analiz edilerek markerlerin genetik çeşitlilik bakımından performanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan PCR'lar sonrası her bir marker için elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten sonra Fragment Analyzer™ cihazına yüklenmiş ve skorlama işlemi yapılmıştır. Fragment Analyzer™ (Advanced Analytical Technologies GmbH, Heidelberg, Germany) Advanced Analytical firması tarafından geliştirilmiş olan otomatik kapiller elektroforez sistemidir. Cihaz sayesinde PCR ürünleri yüksek hassasiyet ve çözünürlükte sanal jel ortamında ve kromatogramlarla değerlendirilebilmektedir. Fragment Analyzer™ cihazında yapılacak analizler için 3 µl

PCR ürünü kullanılmıştır. Örnekler cihaza 96'lık PCR plakalarında yerleştirilmiştir. Cihazda ise analizlerin yapılabilmesi için DNF-900-K0500 kodlu kit içerisinde yer alan ve yetkili firma tarafından üretilen kimyasallar kullanılmıştır. Analiz sonrası ortaya çıkan sonuçlar üretici firma tarafından geliştirilen PROSize 2.0 (Version 1.2.1.1) (Advanced Analytical Technologies, AMES, IA, USA) yazılımı ile görüntülenmiş ve değerlendirilmiştir.

Fragment Analyzer™ cihazında analiz öncesi bazı hazırlıklar yapılmaktadır. Bu hazırlık sürecinde DNF-900-K0500 kit içerisinde yer alan kimyasallar ve PCR örnekleri cihazda kendilerine ayrılan bölgelere yerleştirilmektedir. Yapılan bu hazırlık işlemleri ise aşağıda sıralanmıştır.

1. Cihaz çalıştığı süre boyunca kapiller sistem üzerinde tampon görevi görecektir olan Inlet Buffer (930 dsDNA Inlet Buffer) 1X olarak hazırlanmış (kod: DNF-355-0125) ve Fisherbrand® marka 96'lık plakaya her kuyucuğa 1000 µl olacak şekilde konulmuştur. Ardından plaka cihazda kendine ait olan en üst bölmeye yerleştirilmiştir.
2. Analiz öncesi ikinci bölmede bulunan analiz atıklarının biriktirildiği kutu temizlenmiştir.
3. Cihazın üçüncü bölmesine S-SMK900-0003 kodlu 35-500 bp marker plakaya konulmuştur. Tüm analizlerde bu marker kullanılmıştır.
4. Cihazın ön bölgesinde en son yapılan işlem ise PCR ürünlerinin eklenmesidir. -20 °C'de 96'lık plakalarda yer alan PCR ürünlerine 25 µl dilution buffer (kod: DNF-495-0060) eklenmiş ve santrifüj yapıldıktan sonra dördüncü bölmeye yerleştirilmiştir.
5. Cihazın yan bölgesinde yer alan ve bağlantı bölgesinde "COND" yazan büyük tüpe 200 ml 1X Capillary Conditioning Solution (kod: DNF-475-0050) eklenmiştir.
6. Hacmi 50 ml olan küçük tüpe ise içerisinde 5 µl Intercalating Dye (kod: DNF-600-U030) bulunan 50 ml jel (kod: DNF-800-0240) konulmuştur. Bu jel sanal ortamda jel görüntüsünün oluşmasına imkân vermektedir.
7. Bu işlemlerin ardından analizin başlatılabilmesi için bilgisayarda bulunan yazılım açılmıştır.

Cihazın analize hazırlanmasının hemen ardından cihaz ile bilgisayar arasında bağlantıyı sağlayan Fragment Analyzer (Active)™ yazılımı açılmıştır. Cihazda analizin başlatılabilmesi için cihazda yer alan kimyasalların seviyeleri girilmiştir. Tüm tez aşamasında solüsyon değerlerimiz sabit tutulmuş, Gel 2 yazan kutucuğa 50 ml, Condition solution kutucuğuna ise 200 ml'lik değerler girilmiştir. Bu değerlerin ise cihaza konulan değerlerle aynı olması gerekmektedir. Waste yazan kutucuğa ise atık şişesi boşaltıldıktan sonra 0 yazılmıştır. Tüm bu işlemler ile yazılıma analiz bilgileri girilmiştir. Son sayfada ise alt kısımda bulunan ok işareti tıklanmış ve Fragment Analyzer™ cihazı ile PCR ürünlerimizin analiz süreci başlatılmıştır.

3.2.9. Moleküler analizler

InDel primerlerinden elde edilen lokusların her birinde gözlenen allel büyüklükleri manuel olarak ko-dominant şekilde skorlanmıştır. Elde edilen ko-dominant veri seti GenAlEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) yazılım programı kullanılarak allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), gözlenen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He), polimorfik lokus oranı (PPL) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri hesaplanmıştır.

Allel frekansları; Genetik çeşitliliğin ifade edilmesindeki temel basamak allel frekanslarının hesaplanmasıdır. Çalışılan lokuslarda allelik varyasyonun bulunması genetik çeşitliliğin göstergesidir.

Gözlenen allel sayısı (Na); Gözlenen allel sayısı ne kadar yüksek ise popülasyondaki genetik varyasyon da o kadar yüksektir.

Etkili allel sayısı (Ne); Etkili allel sayısı, bir lokusta tespit edilen allellerin ne kadarının o lokustaki genetik varyasyona katkı sağladığını gösteren bir parametredir. Kimura ve Crow (1964) tarafından geliştirilen bu istatistik allel frekansları üzerinden tahmin edilmektedir.

Gözlenen heterozigotluk (Ho); Popülasyonlarda genetik varyasyonun ölçülmesinde heterozigotluk kullanışlı bir ölçüdür. Üzerinde durulan lokuslar bakımından heterozigot genotiplerin toplam genotiplere oranı gözlenen heterozigotluk değerini verir.

Beklenen heterozigotluk (He); Beklenen heterozigotluk oranının tahmininde, Nei'nin (1987) yansız (unbiased) heterozigotluk değeri, gen frekansları kullanılarak tahmin edilmiştir. Birden fazla lokus olması durumunda ise beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin ortalaması alınır.

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC); Polimorfizm bilgi içeriği popülasyondaki toplam allel sayısından ve allel frekanslarından hesaplanan bir değerdir. Bir genetik markerin ne kadar polimorfik olduğu ve çalışılan lokustaki varyasyonun ne ölçüde olduğu hakkında bilgi verir.

Çalışılan popülasyonlarda genetik varyasyonu görmek için çok değişkenli istatistik analizlerinden Temel Koordinat Analizi (PCoA) allel frekans verileri temel alınarak GenAlEx 6.2 (Peakall and Smouse 2006) paket programından yararlanılarak hesaplanmıştır.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Indel Markerlerin Geliştirilmesi ve Testlenmesi

95 susam genotipinin yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılarak genom seviyesinde dizilemesi sonrası her bir genotipe ait okumalar öncelikle barkod ve adaptörlerinden temizlenmiş, referans genom ile eşleme işlemi yapılmış ve daha sonra tüm varyantlar belirlenmiştir. İçinde SNP, insersiyon ve delesyon bölgelerini içeren bu varyant dosyaları önce birleştirilmiş ardından sadece insersiyon ve delesyon bölgeleri filtrelenmiştir. Yapılan çalışmada referans genomla kıyasla 2 ve üzeri bp büyüklüğünde 785 InDel bölgesi bulunurken, bunun 438 tanesini delesyon bölgesi 347 tanesini ise insersiyon bölgesi oluşturmuştur (Çizelge 4.1). En fazla InDel kromozom 3’de gözlenirken en az ise kromozom 13’de yer almaktadır. Ayrıca en yüksek delesyon ve insersiyonda kromozom 13’de gözlenmiştir. Referans olarak kullandığımız referans genom “Zhongzhi13 V2.0” (Wang vd. 2016)’da kromozom 3 büyüklük bakımından üçüncü sırada yer alırken kromozom 13 ise sondan üçüncü sırada yer almaktadır. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar kromozom büyüklüğü ile elde edilen InDel sayısı arasında pozitif bir ilişki olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.1. Genomda 2 bp ve üzeri InDellerin dağılımı

Kromozom	Toplam InDel sayısı	Delesyon sayısı	Insersiyon sayısı
Chr1	75	41	34
Chr2	54	32	22
Chr3	106	61	45
Chr4	52	29	23
Chr5	40	23	17
Chr6	63	32	31
Chr7	54	30	24
Chr8	81	51	30
Chr9	72	40	32
Chr10	52	27	25
Chr11	39	20	19
Chr12	61	31	30
Chr13	36	21	15
Toplam	785	438	347

Wu vd (2014) RAD metodu ile oluşturulmuş iki farklı susam genomu üzerinde ele aldıkları çalışmada 79 InDel elde ederken 36 InDelin iki genotip arasında polimorfik olduğunu ifade etmişlerdir. Ele aldığımız çalışmamızda ise 8 bp üzeri 86 InDel bölgesi belirlenmiş olup toplam sayı ise 2 bp üzeri için 785 olarak hesaplanmıştır. Dizileme adına kütüphane oluşturmada tez çalışmamızda bu araştırmadan farklı olarak double-digest RAD-Seq metodu kullanılmıştır. İki enzim ile daha fazla bölgenin elde edilmiş

olması aradaki bu InDel farkının bir sebebi olarak görülebilir. Ayrıca yürüttüğümüz çalışmada 95 farklı genotipin ele alınması bu farkın oluşmasında diğer bir farklılık olarak değerlendirilebilir. Diğer yandan araştırmacılar 55 bp büyüklüğünde InDel bölgesi yakalamakla birlikte çalışmamızda en büyük InDel uzunluğu 14 bp olarak kaydedilmiştir. Susamda ele alınan diğer bir çalışmada Wei vd (2016) iki susam genotipinde tüm genom dizilemesi (Whole genome resequencing-wgrs) yapmış ve çalışmada yaklaşık 203 bin adet InDel bölgesi elde etmişlerdir. Özellikle bu tez çalışmasında kullanılan ddrad-seq metoduna kıyasla tüm genomun ele alınması genomda çok sayıda yapısal değişikliğin ortaya çıkarılmasına imkan sağlamıştır. Bu durum tüm genom dizilemenin avantajını ortaya çıkarmaktadır. Ancak ddrad-seq ve wgrs arasında maliyet olarak oldukça büyük bir fark bulunmaktadır. Araştırmacılar en fazla InDel'i LG5'de en az ise LG12'de elde etmiştir. Ele aldığımız çalışmada ise en çok ve en az InDel sırasıyla kromozom 3 ve 13'de elde edilmiştir.

Geliştirilen markerlerin tüm dünyada kullanabilmesi bakımından önemli kriterlerden biride agaroz jelde ayırt edilebilir olmasıdır. Bu nedenle bu tez çalışmasında agaroz jelde ayırt edilebilir olan 8 bp ve üzeri insersiyon/delesyon bölgeleri kullanılmıştır. Toplam tez kapsamında 785 InDel bölgesi elde edilmiş olmasına rağmen 8 bp üzeri InDel sayısı 86 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). 53 delesyon ve 33 insersiyon bölgesi tanımlanırken en fazla delesyon kromozom 11'de en fazla insersiyon ise kromozom 6'da gözlenmiştir. Kromozom 10'da hiç delesyona rastlanmazken kromozom 5'de insersiyon belirlenememiştir. 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip insersiyon ve delesyonlar Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip InDel sayıları ve genomdaki dağılımları

Kromozom	Delesyon sayısı	İnsersiyon sayısı
Chr1	5	5
Chr2	4	1
Chr3	2	6
Chr4	3	2
Chr5	3	0
Chr6	2	1
Chr7	3	2
Chr8	8	2
Chr9	4	5
Chr10	0	2
Chr11	9	1
Chr12	5	3
Chr13	5	3
Toplam	53	33

Çizelge 4.3. Genom boyunca belirlenmiş 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip insersiyon (ekleme) bölgeleri

Kromozom	Fiziksel pozisyon	InDel dizisi	InDel tipi	InDel uzunluğu (bp)
Chr1	1924302	AAAAAACAGA	Inersiyon	10
Chr1	8602437	TAGTTGAGTAA	Inersiyon	11
Chr1	10171409	CTTTTGTTC	Inersiyon	11
Chr1	15365977	ATAACCCT	Inersiyon	8
Chr1	15931209	AAGCATCTGC	Inersiyon	10
Chr2	8434594	TCACTTGCTC	Inersiyon	10
Chr3	3933997	AAAGATCAT	Inersiyon	9
Chr3	5681885	ATAACTTT	Inersiyon	8
Chr3	5758231	AATTGTCTG	Inersiyon	9
Chr3	13078175	TGGATTGAT	Inersiyon	9
Chr3	24847064	CTATCTTGTCTG	Inersiyon	12
Chr3	25255054	GTCAGGCG	Inersiyon	8
Chr4	3501848	AACAGCAAG	Inersiyon	9
Chr4	12047194	TCATAACAATAA	Inersiyon	12
Chr6	25170199	TTAGGATATA	Inersiyon	10
Chr7	2567633	CGAGTTTAG	Inersiyon	9
Chr7	11218635	CGCGCCATGG	Inersiyon	10
Chr8	17465130	GTAGGTAATGGC	Inersiyon	12
Chr8	22375397	ATGCAGGTATT	Inersiyon	11
Chr9	83648	TCCATTCTG	Inersiyon	9
Chr9	2878824	TCCCAATTTTCG	Inersiyon	11
Chr9	4042652	GATCCAGACCTGA	Inersiyon	13
Chr9	7344455	AACCTAACTTA	Inersiyon	11
Chr9	17977272	ATCTGATTACGT	Inersiyon	12
Chr10	1129764	ATTGTTTACTA	Inersiyon	12
Chr10	16879947	CAATTGACA	Inersiyon	9
Chr11	12599287	GTTATTACGTGT	Inersiyon	12
Chr12	7851788	AAATCCATG	Inersiyon	9
Chr12	12737569	AAATCTGT	Inersiyon	8
Chr12	14130703	TCTGGGAC	Inersiyon	8
Chr13	14413322	TTATTTTCTC	Inersiyon	10
Chr13	14462216	TGACTAGA	Inersiyon	8
Chr13	14465088	CCTGCTTCT	Inersiyon	9

Çizelge 4.4. Genom boyunca belirlenmiş 8 bp ve üzeri büyüklüğüne sahip delesyon (silinme) bölgeleri

Kromozom	Fiziksel pozisyon	InDel dizisi	InDel tipi	InDel uzunluk (bp)
Chr1	12141886	ATACATAAATATAT	Delesyon	14
Chr1	10684379	GCGGTCATA	Delesyon	9
Chr1	12499067	TCATATGG	Delesyon	8
Chr1	18076193	TTCAACGCA	Delesyon	9
Chr1	19878537	ATTTTTTATG	Delesyon	10
Chr2	11956920	CACTTAAAT	Delesyon	9
Chr2	16991276	ATCCACGTG	Delesyon	9
Chr2	18254320	GAGTGAGGTTG	Delesyon	11
Chr2	13530605	CTATTCTAGA	Delesyon	10
Chr3	3159274	TTCTTCAGC	Delesyon	9
Chr3	16817209	CCGGTTTTGG	Delesyon	10
Chr4	805760	TTTTCGGCCC	Delesyon	10
Chr4	10090797	CACGAAAGTGAA	Delesyon	12
Chr4	16553051	GTCACCTTTACTG	Delesyon	13
Chr5	4151098	GAAGATGCAT	Delesyon	10
Chr5	12064933	TATATGTCCAAGAA	Delesyon	14
Chr5	15770216	AACCTGAA	Delesyon	8
Chr6	3765637	ACTTGAGT	Delesyon	8
Chr6	15493394	GTTCTTGGGTT	Delesyon	11
Chr7	9663535	TACAGTGA	Delesyon	8
Chr7	13849040	AGGAGGAAT	Delesyon	9
Chr7	14376520	ATTCAGGGC	Delesyon	9
Chr8	204960	AATTATTCTGA	Delesyon	11
Chr8	2232178	GTATGATTAGG	Delesyon	11
Chr8	12091726	CAATGGCTA	Delesyon	9
Chr8	12863799	AATAACACATAA	Delesyon	12
Chr8	17895254	ACCCAAACT	Delesyon	9
Chr8	23088746	CGTATGTAAA	Delesyon	10
Chr8	24437543	CAAAAGCTG	Delesyon	9
Chr8	25510231	ATATTGCC	Delesyon	8
Chr9	1286207	AGGCTTAAC	Delesyon	9
Chr9	17162035	GATGGGTGAG	Delesyon	10
Chr9	22192324	AATCCACAT	Delesyon	9
Chr9	22693423	CCGATTCCGTCA	Delesyon	12
Chr11	1650384	TGCATCCCA	Delesyon	9
Chr11	2176613	GTGATAAGTG	Delesyon	10
Chr11	8335212	CAGGTTTCG	Delesyon	8

Çizelge 4.4. devamı

Kromozom	Fiziksel pozisyon	InDel dizisi	InDel tipi	InDel uzunluk (bp)
Chr11	9853924	AATCATACGATGAG	Delesyon	14
Chr11	11435807	GTGCAGAGTA	Delesyon	10
Chr11	11733409	ACCACGATTCAGAC	Delesyon	14
Chr11	13066884	GACCCTGA	Delesyon	8
Chr11	13584022	TTATCAAAT	Delesyon	9
Chr11	13826811	TAAATTTCA	Delesyon	9
Chr12	7621962	TGCACTAAAT	Delesyon	10
Chr12	11308275	AAGAAATTT	Delesyon	9
Chr12	12221515	GCACGACT	Delesyon	8
Chr12	12487265	AGACTAAC	Delesyon	8
Chr12	12936814	AATAACTTAG	Delesyon	10
Chr13	8231260	ACGTCTTGTAGG	Delesyon	12
Chr13	10333430	AATTATTGATC	Delesyon	11
Chr13	10529779	TAACAAGCAGTAA	Delesyon	13
Chr13	12075963	CACCATCAC	Delesyon	9
Chr13	13896532	TGTATCATAA	Delesyon	10

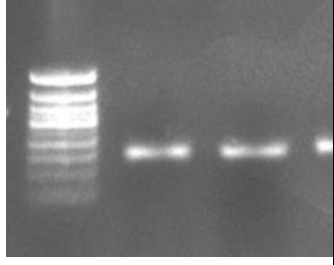
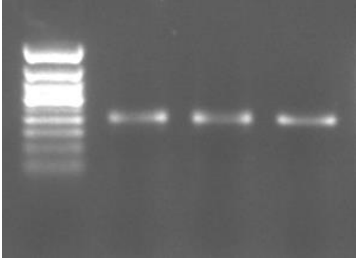
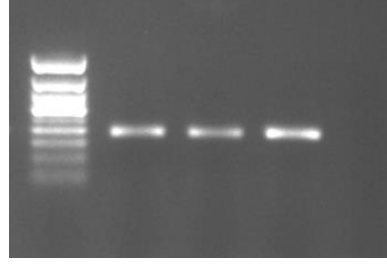
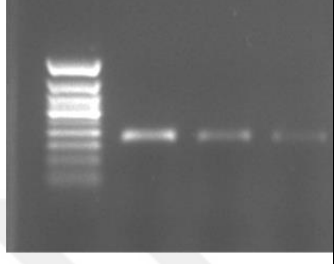
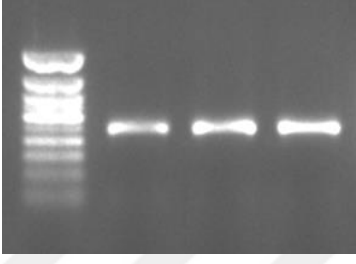
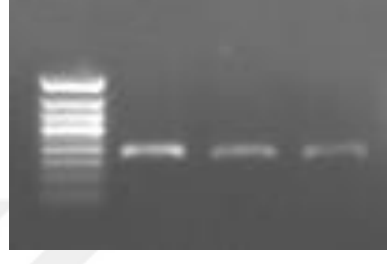
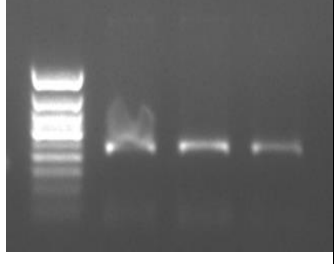
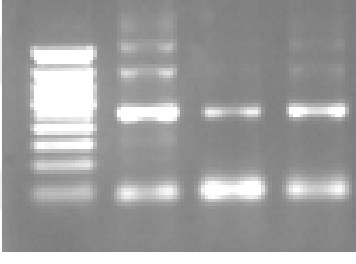
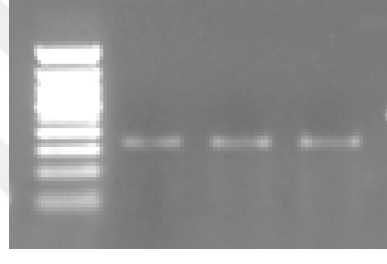
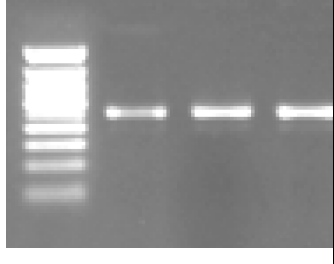
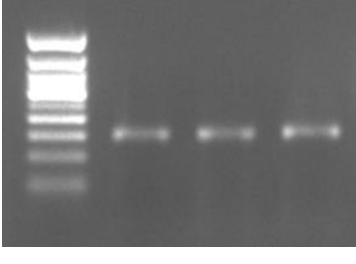
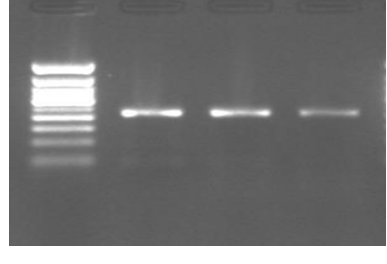
8 bp üzeri delesyon ve insersiyon bölgeleri incelendiğinde en büyük delesyon 14 baz uzunluğunda olup kromozom 11, 5 ve 1 görüntülenmiştir. En fazla delesyon ise kromozom 8 ve kromozomda 11’de gözlenmiştir. En büyük insersiyon ise 13 bp uzunluğunda belirlenmiş ve kromozom 13’de yer almıştır. En fazla insersiyon ise kromozom 3’de kaydedilmiştir. Çok sayıda marker olmasından dolayı tez kapsamında 38 InDel marker (24 delesyon, 14 insersiyon) validasyon için seçilmiş ve seçilen her bir InDel bölgesi için primer dizaynı öncesi referans genom üzerinde InDel bölgeleri IGB Genome Browser programında görüntülenmiştir. Daha sonra referans genomdaki dizi dikkate alınarak her InDel bölgesi için Primer 3 programında primer dizaynı yapılmıştır. Geliştirilen primerler, InDel bölgesi, InDel dizisi ve yaklaşık ürün büyüklüğü Çizelge 4.5’de verilmiştir. Primerler daha sonra koleksiyon içerisinden rastgele seçilen bulk DNA’lar ile testlenmiştir. Üç bulk DNA kullanılarak yapılan PCR’lar sonrası ürünler agaroz jelde görüntülenmiştir (Şekil 4.1). Tüm primerler beklenen bölgelerde bant üretilmesini sağlamıştır.

Çizelge 4.5. Tez kapsamında seçilen 8 bp ve üzeri InDel bölgesine sahip InDel markerler

Marker adı	Kromozom	Fiziksel pozisyonu	InDel dizisi	InDel tipi	InDel uzunluğu (bp)	Forward Primer	Reverse Primer	Ürün büyüklüğü (bp)
S-D-1-106	chr1	10684379	GCGGTCATA	delesyon (silme)	9	GATGAATTTAATTGAGTCCAACAA	ATTTTCTGACTTAGGTGTTTATGC	180
S-D-1-121	chr1	12141886	ATACATAAATATAT	delesyon (silme)	14	TTCCAGGTGGAGATCCTGAC	GGAGCGGAATTCTGGACATA	202
S-D-1-124	chr1	12499067	TCATATGG	delesyon (silme)	8	TTGACGAATAATTTTGTTCCTCA	CCTGGTGGAAATGGAGTCAA	183
S-D-1-198	chr1	19878537	ATTTTTATG	delesyon (silme)	10	TGTGCATCTTTGATACATATGAATTTT	TCACACTGCGTTATTGATTTAATTT	182
S-D-2-135	chr2	13530605	CTATTCTAGA	delesyon (silme)	10	CAAATTCACATAACCAGCATTGA	GTCCGGGACGTGAAATTGAT	244
S-D-4-805	chr4	805760	TTTTCGGCC	delesyon (silme)	10	AGGCAGACCAGGGTTTTACA	GGTTTTAGCTCTAGAGGAAAGAAAAC	169
S-D-4-100	chr4	10090797	CACGAAAGTGAA	delesyon (silme)	12	GAGCAGCAGACCCATTAAAC	GCAGTGGCTCAATTCTGGTT	231
S-D-4-165	chr4	16553051	GTCACCTTTACTG	delesyon (silme)	13	GGGGAAATGATGGAGGGTTA	CAAGTTCACGTACCAATTT	249
S-D-5-157	chr5	15770216	AACCTGAA	delesyon (silme)	8	GCGAAACACAGCCTAAAAGG	TGTTTGGAGCTTCCTCATTTG	155
S-D-6-154	chr6	15493394	GTTCTTGGGTT	delesyon (silme)	11	GTGTGGCCGGAAATCAAT	TGAAAGCAAACCTCAAGAGTG	234
S-D-7-138	chr7	13849040	AGGAGGAAT	delesyon (silme)	9	TTTTACCTGGGGATTTGAAGG	CTAACGAGGTGGTGGGCAAT	150
S-D-7-143	chr7	14376520	ATTCAGGGC	delesyon (silme)	9	GGATTTAATCGGGGAAGCAT	TCCGATGTTTTCTTTTCGAG	217
S-D-8-223	chr8	2232178	GTATGATTAGG	delesyon (silme)	11	TCCTACGTTGGATGTTGATG	ACGGGTGCGCTAACAACC	150
S-D-8-120	chr8	12091726	CAATGGCTA	delesyon (silme)	9	CAGGCACCTCAAAGGAAGAG	GGGAGGAGTCGTCTGTCGT	810
S-D-8-178	chr8	17895254	ACCCAAACT	delesyon (silme)	9	GTGTGCCCTAGTTTCGAGT	GTGAGCTGGCGGTGATTATT	198
S-D-8-230	chr8	23088746	CGTATGTAAA	delesyon (silme)	10	AATTGTATTGCAATCAGGTTTGG	CAGCCATATAGTTGGGTGGA	150
S-D-8-244	chr8	24437543	CAAAAGCTG	delesyon (silme)	9	TGATTTGGGATCTTGAACGA	TTGCCTGCTTATGTGATGC	153
S-D-8-255	chr8	25510231	ATATTGCC	delesyon (silme)	8	TCAAGCCTTAATCGGAGACC	TTCTGCTCTACGCGTATTC	431
S-D-9-128	chr9	1286207	AGGCTTAAC	delesyon (silme)	9	TGCATAGCAACATAAATGAGGAA	CTCTTATGCATGGCCACCAC	103
S-D-9-171	chr9	17162035	GATGGGTGAG	delesyon (silme)	10	CGGAACCTCTCAGTGATAAAGAGC	TCCACCTGTTCCATCCTCTC	353
S-D-12-113	chr12	11308275	AAGAAATTT	delesyon (silme)	9	AATTAGCCGCCTTTTGGTT	TTGTTTTGAAATTGACGGTACG	374

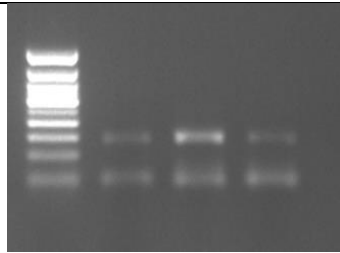
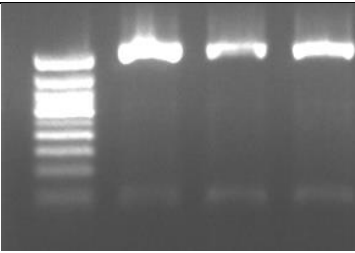
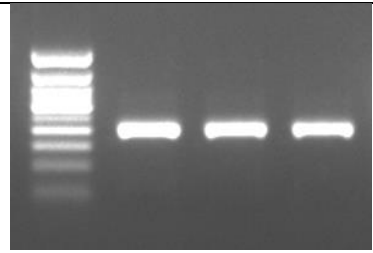
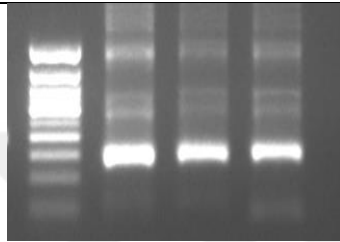
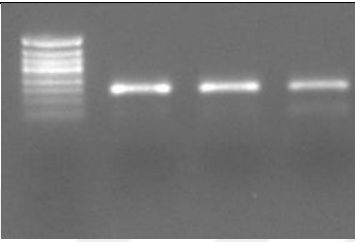
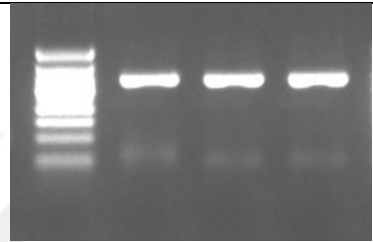
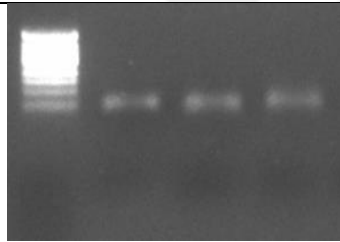
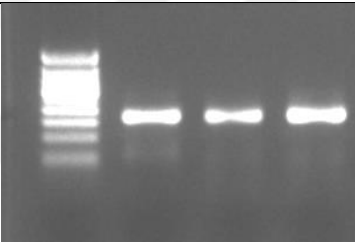
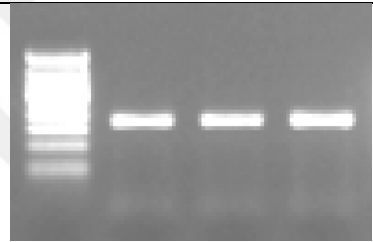
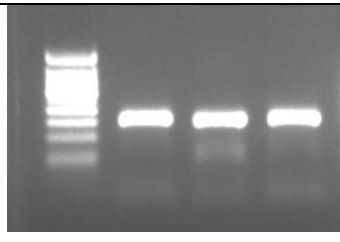
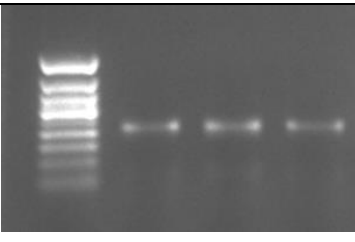
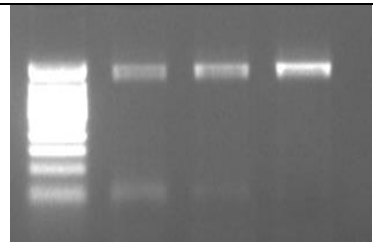
Çizelge 4.5. devamı

Marker adı	Kromozom	Fiziksel pozisyonu	InDel dizisi	InDel tipi	InDel uzunluu (bp)	Forward Primer	Reverse Primer	Ürün büyüklüğü (bp)
S-D-12-124	chr12	12487265	AGACTAAC	delesyon (silme)	8	TGCATGCATCTAAACCTTGAA	AATTTCTGGCACATTTCAAAAA	162
S-D-13-823	chr13	8231260	ACGTCTTGTAGG	delesyon (silme)	12	GCTTCTTATTCACCTAAATGGTGCT	TCGTCACCTTTTTCTAAGAGAGCTT	233
S-D-13-103	chr13	10333430	ATACATAAATATAT	delesyon (silme)	11	TCTCCGGACTGTCTGAAAGG	TGTCTTTGATCCGTTGGTCA	626
S-I-1-101	chr1	10171409	CTTTTGTTTGC	insersiyon (ekleme)	11	GGGGAGGTAATTATTCCGTGA	TATACACGTCCGCAAGAGCA	152
S-I-1-192	chr1	1924302	AAAAACAGA	insersiyon (ekleme)	10	TCTTCATCTGTCACCCCAA	CTGTAAAGCGCCACTGTTGA	173
S-I-3-248	chr3	24847064	CTATCTTGTCTG	insersiyon (ekleme)	12	TTTTCACCTGTTTCGAGACCT	CTTTGAGCTGGAACGTGGAT	174
S-I-3-130	chr3	13078175	TGGATTGAT	insersiyon (ekleme)	9	TGGCATGGATGAAACTGTC	TTAATTAATACACCAATGGCCTGT	151
S-I-4-120	chr4	12047194	TCATAACAATAA	insersiyon (ekleme)	12	TTGTTGGAAGGACTAAAATTGAAA	GGGCAATGTGCACCTTTTA	304
S-I-6-251	chr6	25170199	TTAGGATATA	insersiyon (ekleme)	10	ATTGCATTTGGGCTGGATTA	CCCCCTCGAAACAATAATG	228
S-I-7-112	chr7	11218635	CGCGCCATGG	insersiyon (ekleme)	10	GTCACCCTCAAGGAGATCCA	AAACAGAAAGAAGAGAAAAACCCTTA	238
S-I-8-174	chr8	17465130	GTAGGTAATGGC	insersiyon (ekleme)	12	CTGCAAGCAACAAACCAAAA	TCTTCAAGAGTCATGGCTACA	167
S-I-9-179	chr9	17977272	ATCTGATTACGT	insersiyon (ekleme)	12	CATTCCCTTCAAACCCACA	TGCAACGCTTGCAAGAAAC	213
S-I-9-404	chr9	4042652	GATCCAGACCTGA	insersiyon (ekleme)	13	CAGCGGATTTGTGCTTGTTA	GACTCTAACTTTACCCAATTCTTTAGG	161
S-I-9-836	chr9	83648	TCCATTCTG	insersiyon (ekleme)	9	ATGGGCCTGTACCGGTATACTA	TTTTTGAGTGAATGACTATGATTACAT	223
S-I-10-168	chr10	16879947	CAATTGACA	insersiyon (ekleme)	9	TCTATTCTGACATTGACCGGATT	TCACAAAAACAACCAAAGTTGC	152
S-I-10-112	chr10	1129764	ATTGTTTTACTA	insersiyon (ekleme)	12	TGATGGAGTAATTGAAAGTGTACG	CAAAAGCAGAGTTGACCGTATG	155
S-I-10-125	chr11	12599287	GTTATTACGTGT	insersiyon (ekleme)	12	GGCAAAGAAATGCAGAGGAG	CACTTTCACCCACCCATCAT	210

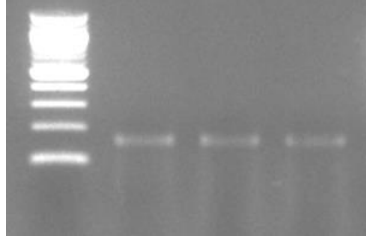
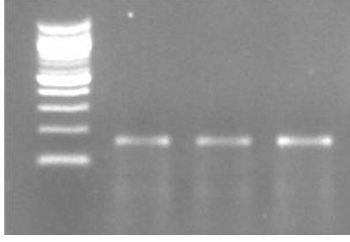
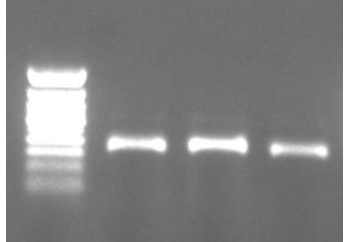
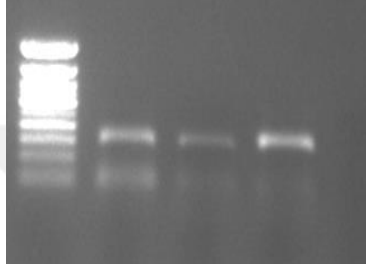
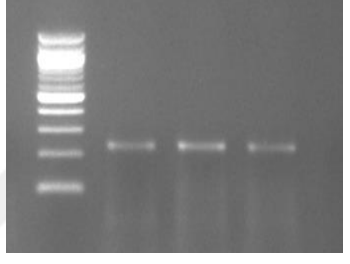
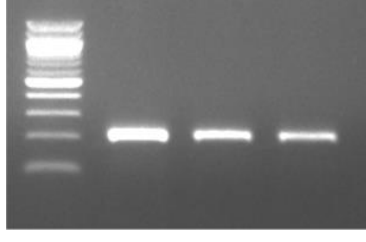
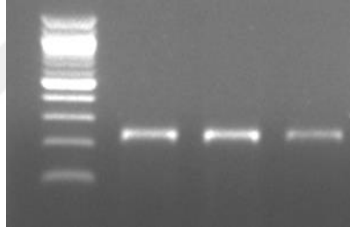
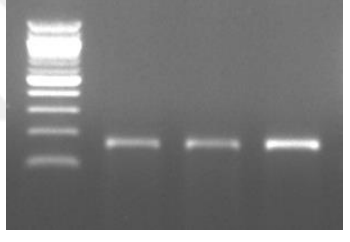
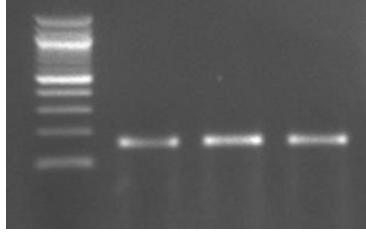
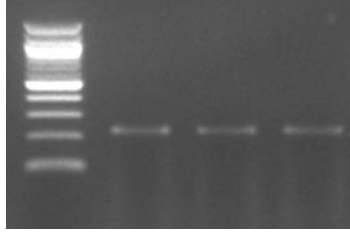
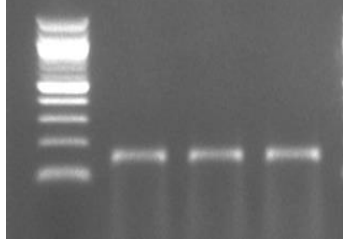
		
S-D-1-106 nolu marker*	S-D-1-121 nolu marker*	S-D-1-124 nolu marker*
		
S-D-1-198 nolu marker*	S-D-2-135 nolu marker*	S-D-4-805 nolu marker*
		
S-D-4-100 nolu marker*	S-D-4-165 nolu marker*	S-D-5-157 nolu marker*
		
S-D-6-154 nolu marker*	S-D-7-138 nolu marker*	S-D-7-143 nolu marker*

Şekil 4.1. Seçilmiş markerlerin bulk DNA'lar kullanılarak testlenmesine ait jel görüntüleri

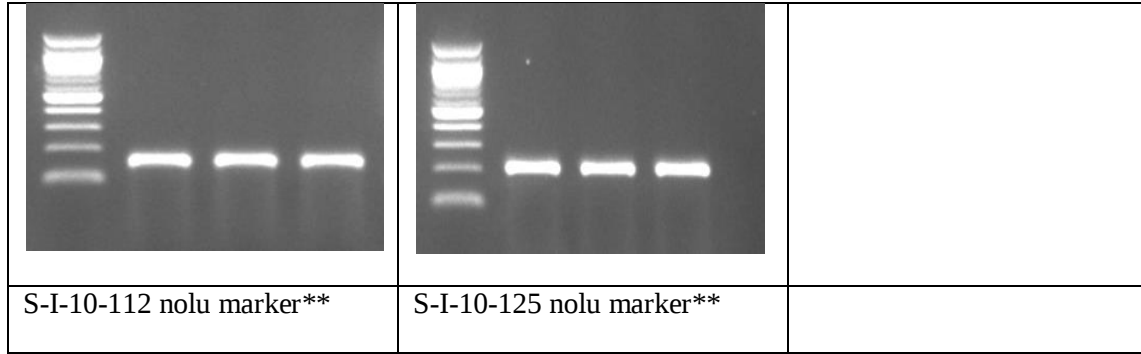
şekil 4.1'in devamı

		
S-D-8-223 nolu marker*	S-D-8-120 nolu marker*	S-D-8-178 nolu marker*
		
S-D-8-230 nolu marker*	S-D-8-244 nolu marker*	S-D-8-255 nolu marker*
		
S-D-9-128 nolu marker**	S-D-9-171 nolu marker**	S-D-12-113 nolu marker**
		
S-D-12-124 nolu marker*	S-D-13-823 nolu marker*	S-D-13-103 nolu marker*

Şekil 4.1'in devamı

		
S-I-1-101 nolu marker**	S-I-1-192 nolu marker**	S-I-3-248 nolu marker*
		
S-I-3-130 nolu marker*	S-I-4-120 nolu marker*	S-I-6-251 nolu marker**
		
S-I-9-179 nolu marker**	S-I-7-112 nolu marker**	S-I-8-174 nolu marker**
		
S-I-9-404 nolu marker**	S-I-9-836 nolu marker**	S-I-10-168 nolu marker**

Şekil 4.1'in devamı



*50 bp ladder, **100 bp ladder

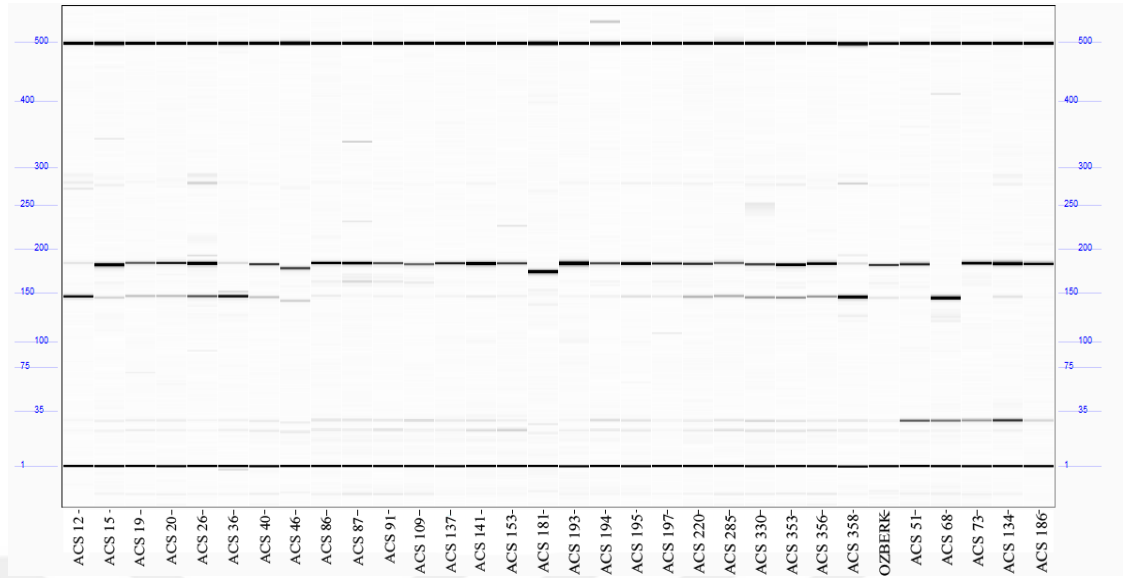
4.2. InDel Markerlerin Kullanılarak Susam Germplasmında Genetik Çeşitliliği Belirlenmesi

Tez kapsamında geliştirilen InDel markerlerden seçilmiş olan 16 marker (9 delesyon, 7 insersiyon) dört farklı kıtadan orijin alan (Çizelge 3.1) ve 32 susam genotipinden oluşan koleksiyonda genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla kullanılmıştır (Çizelge 4.6)

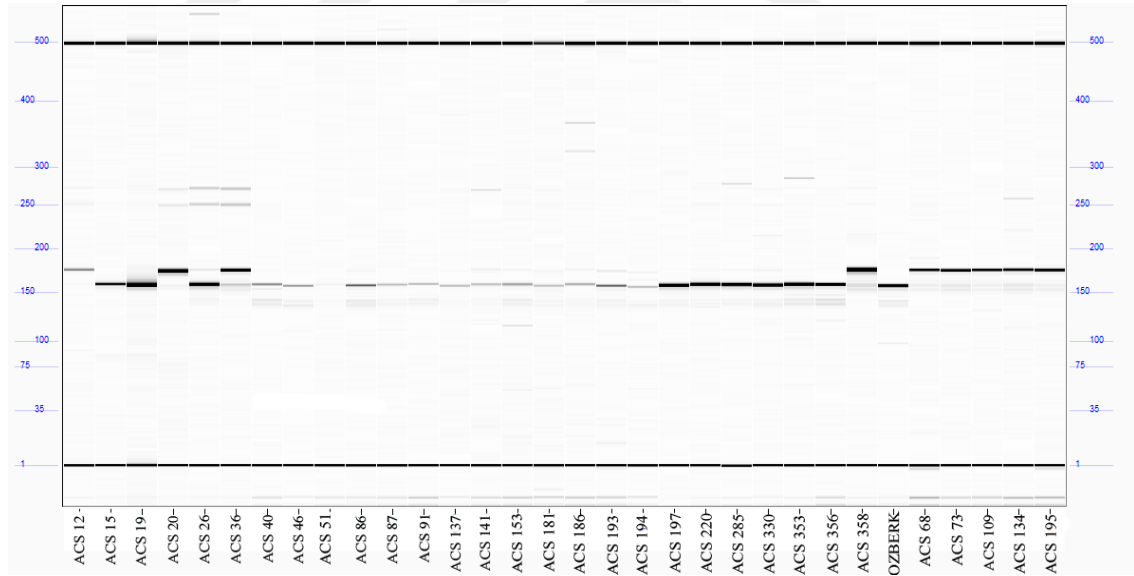
Çizelge 4.6. Genetik çeşitliliği belirlenmesinde kullanılan InDel markerler ve susam Genotipleri

InDel marker	Susam genotipleri
S-D-1-106, S-D-1-121, S-D-4-165, S-D-5-157, S-D-7-143, S-D-8-223, S-D-8-178, S-D-9-128, S-D-12-124, S-I-1-192, S-I-3-248, S-I-4-120, S-I-6-251, S-I-9-179, S-I-10-168, S-I-10-112	ACS 12, ACS 15, ACS 19, ACS 26, ACS 36, ACS 40, ACS 68, ACS 73, ACS 86, ACS 87, ACS 91, ACS 109, ACS 134, ACS 137, ACS 141, ACS 153, ACS 194, ACS 195, ACS 181, ACS 186, OZBERK, ACS 197, ACS 220, ACS 285, ACS 51, ACS 193, ACS 330, ACS 353, ACS356, ACS358, ACS 20, ACS 46

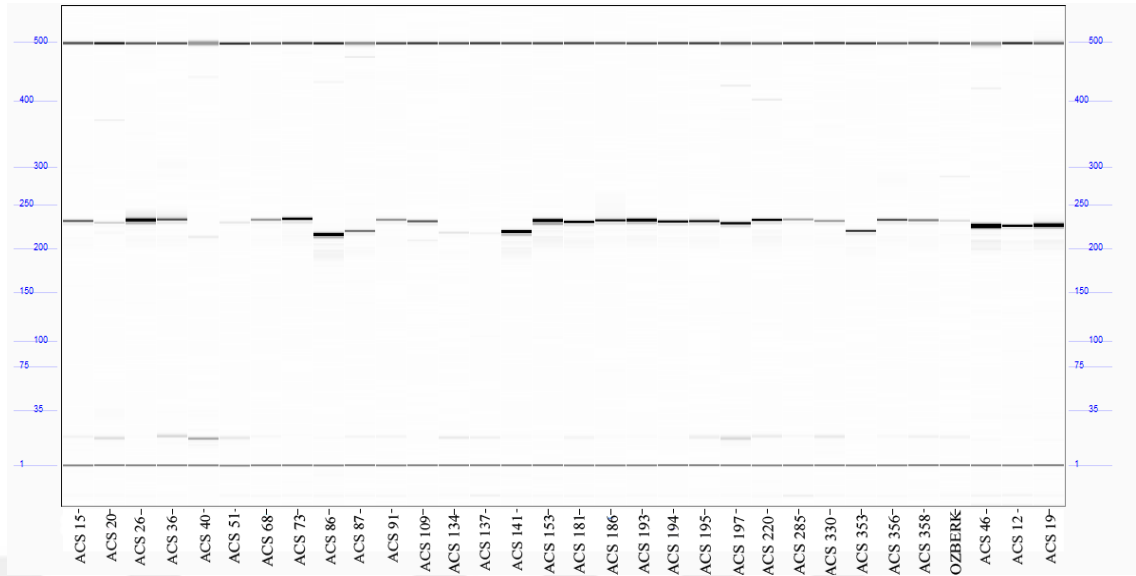
Genetik çeşitliliği belirlemek aynı zamanda markerlerin performanslarını incelemek amacıyla öncelikle her bir InDel marker kullanılarak PCR'ların yapılması ve ardından jel görüntülerinin skorlanması gerekmektedir. Yürütülen bu tez çalışmasında PCR ürünleri Fragment Analyzer cihazında görüntülenmiştir. 2 bp'ye kadar farklılığı ortaya koyabilme yetisine sahip bu cihazda 16 farklı markere ait PCR ürünleri görüntülenmiş ve ardından bant büyüklüklerine göre skrolama işlemi yapılmıştır (Şekil 4.2 – 4.17)



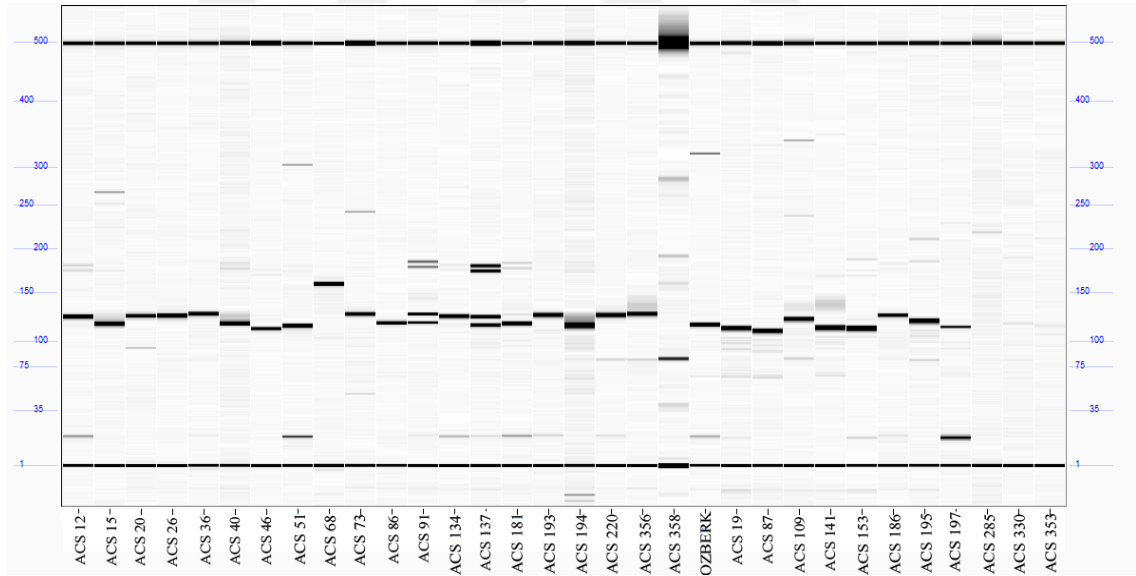
Şekil 4.2. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-1-106'ya ait jel görüntüsü



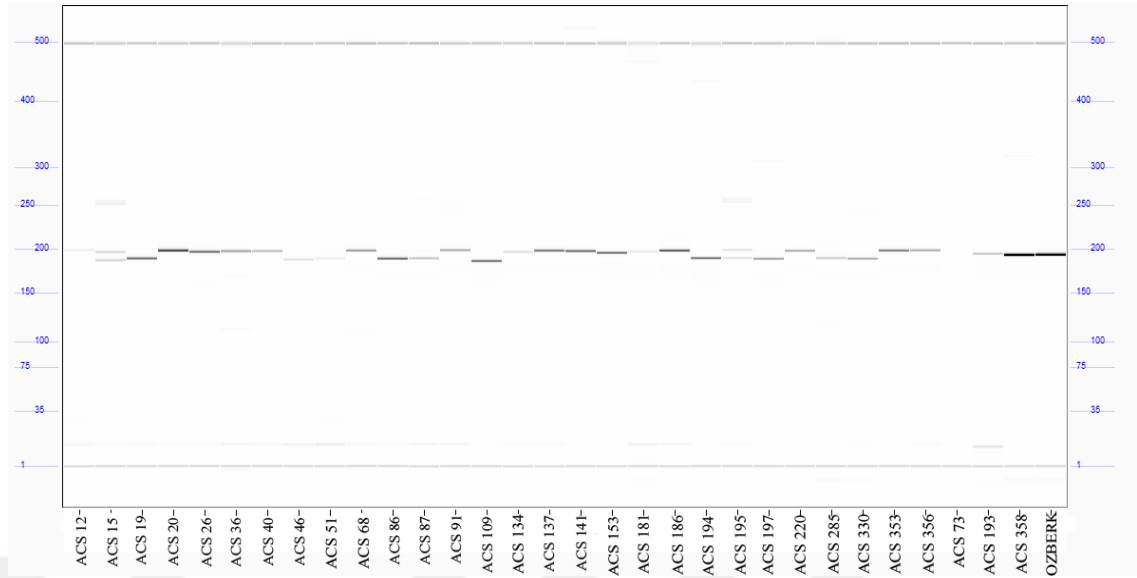
Şekil 4.3. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-1-121'e ait jel görüntüsü



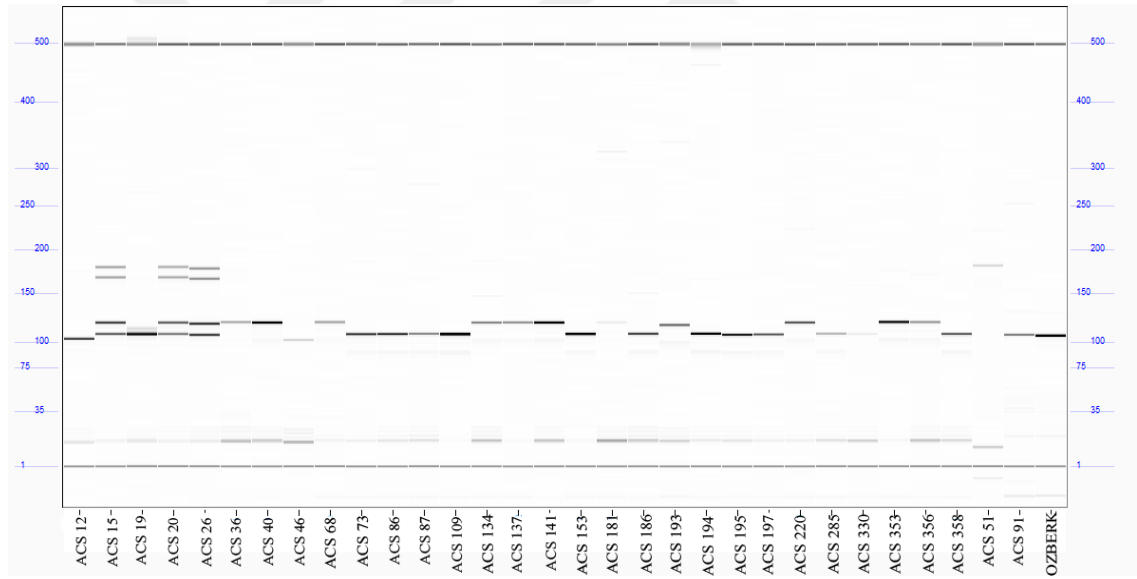
Şekil 4.4. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-4-165 'e ait jel görüntüsü



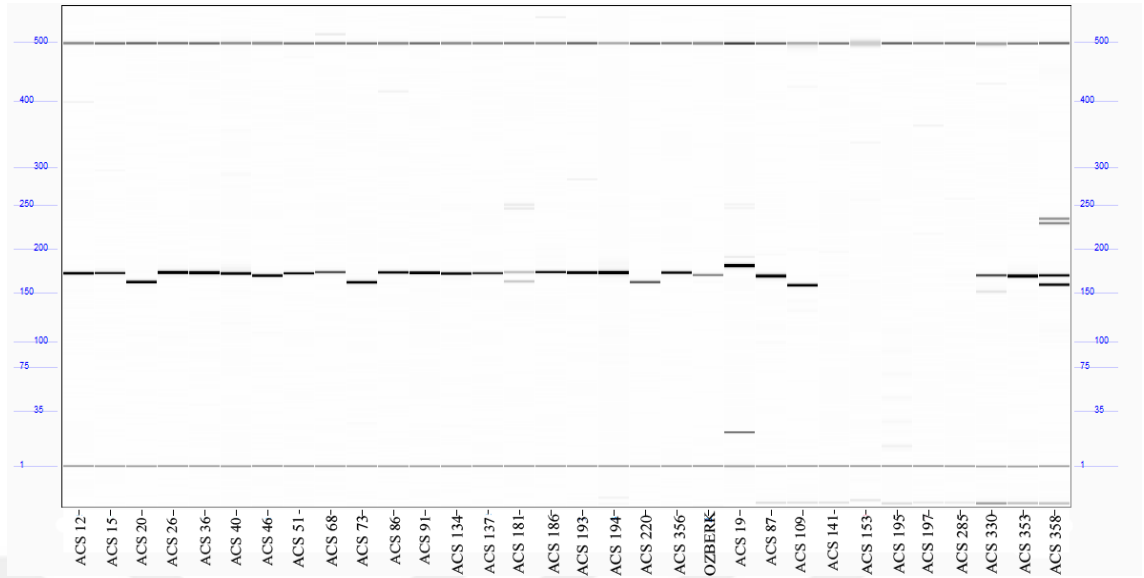
Şekil 4.5. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-5-157 'e ait jel görüntüsü



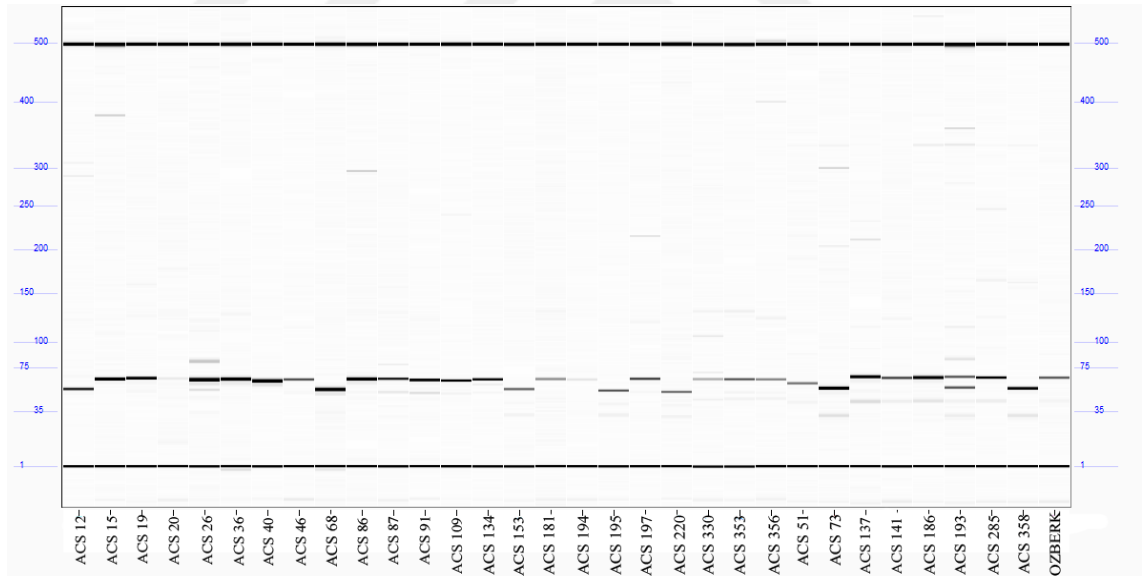
Şekil 4.6. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-7-143' e ait jel görüntüsü



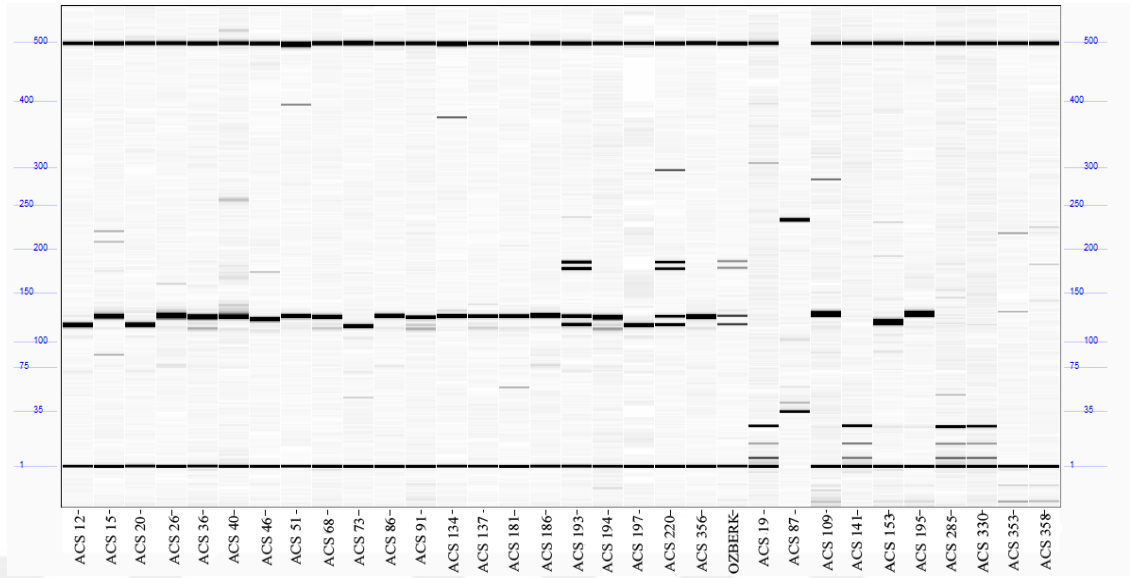
Şekil 4.7. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-8-223'e ait jel görüntüsü



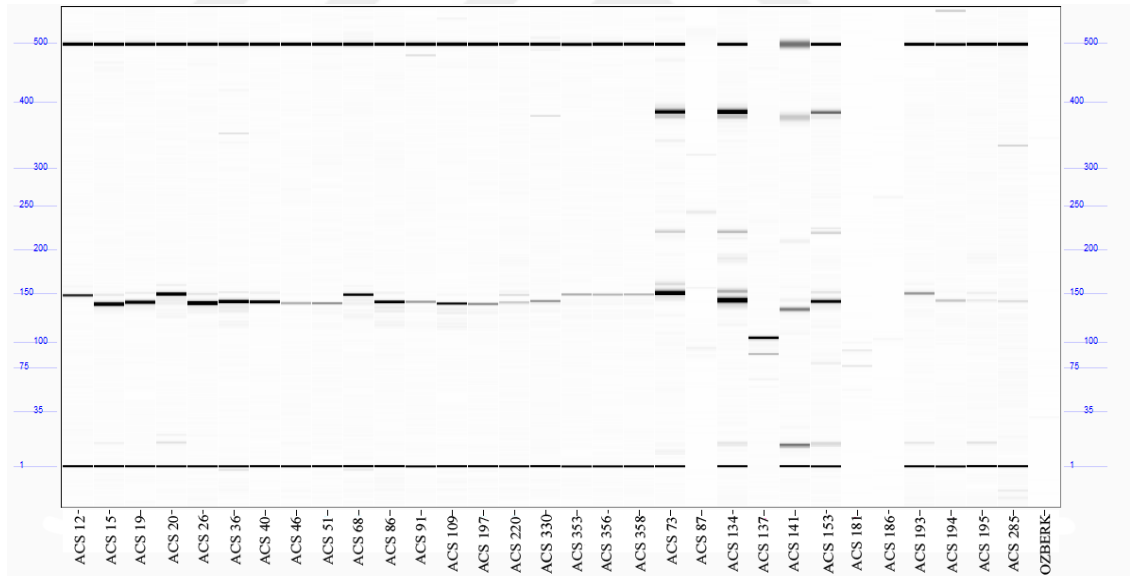
şekil 4.8. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-8-178'e ait jel görüntüsü



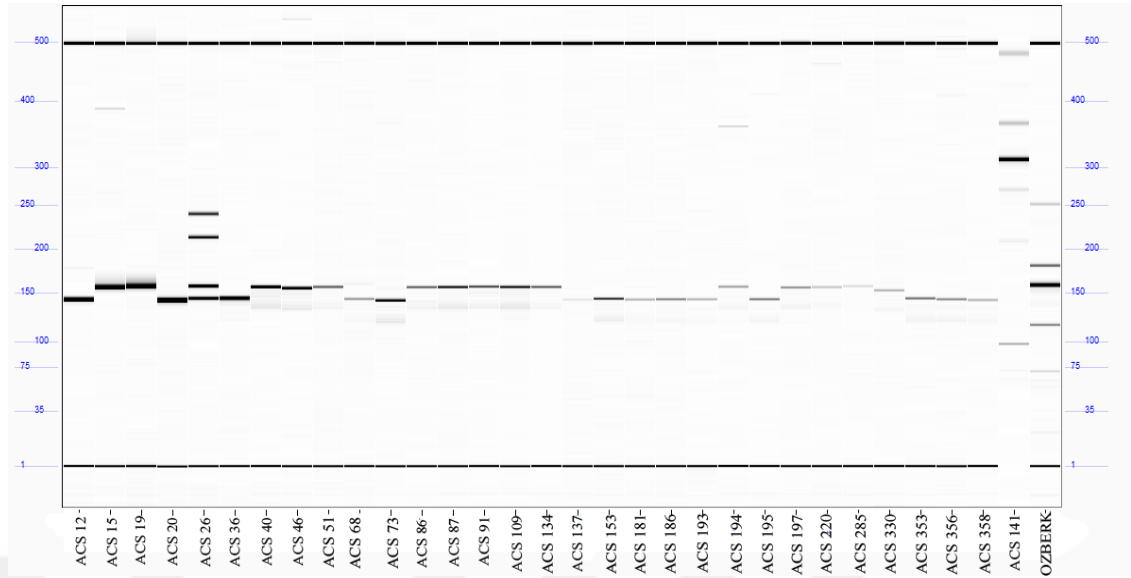
şekil 4.9. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-9-128' e ait jel görüntüsü



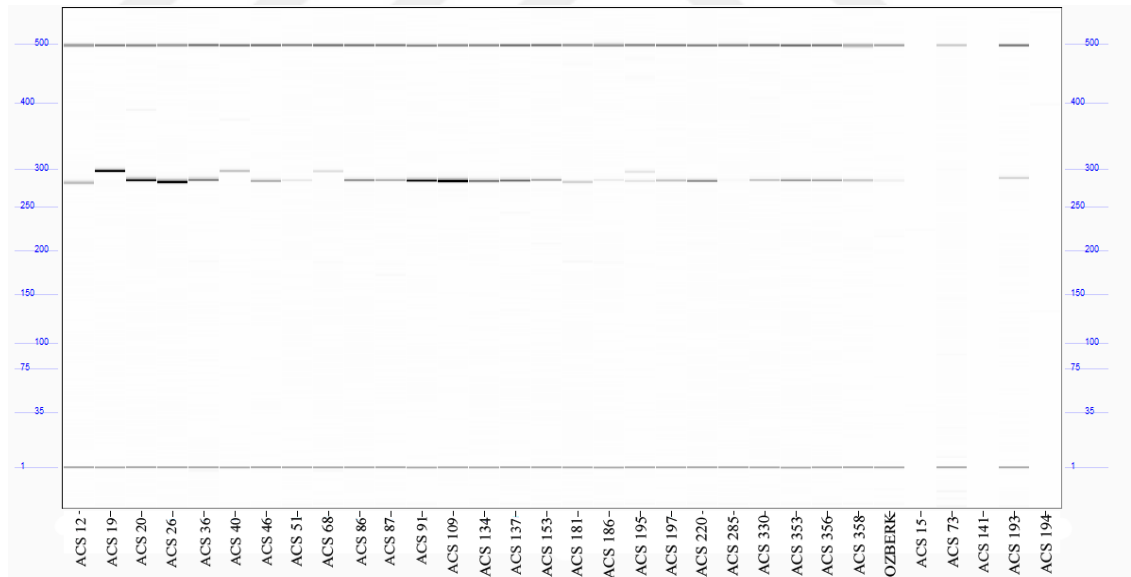
Şekil 4.10. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-D-12-124'e ait jel görüntüsü



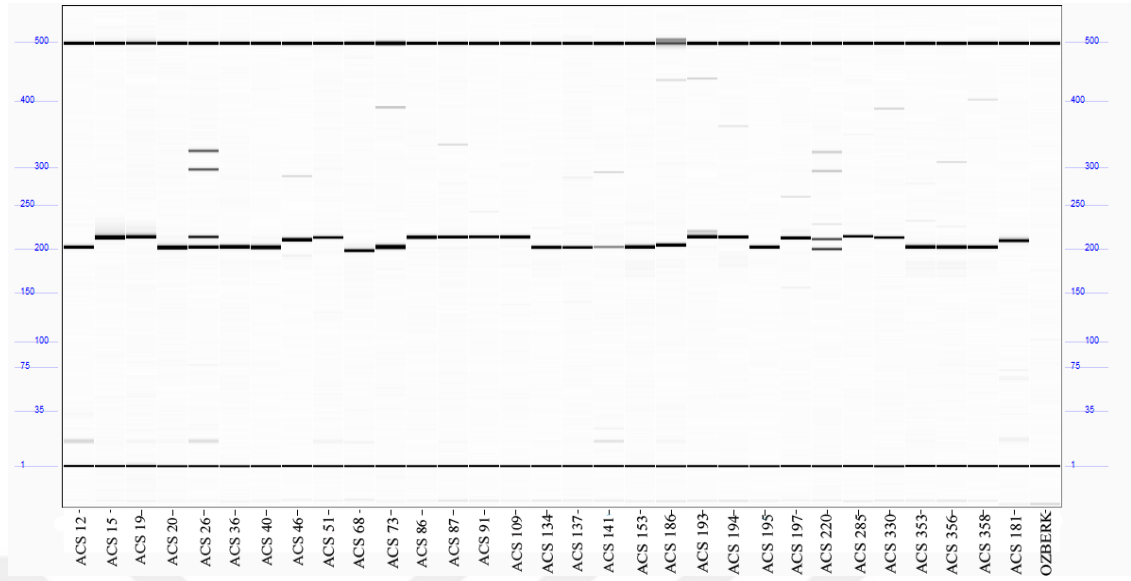
Şekil 4.11. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-1-192'ye ait jel görüntüsü



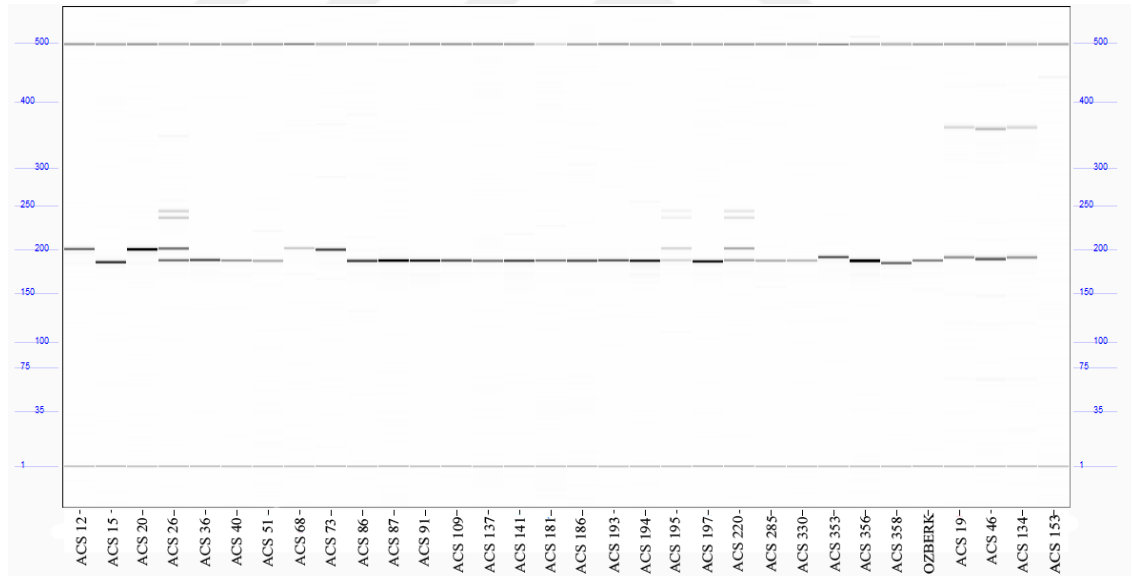
Şekil 4.12. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-3-248'e ait jel görüntüsü



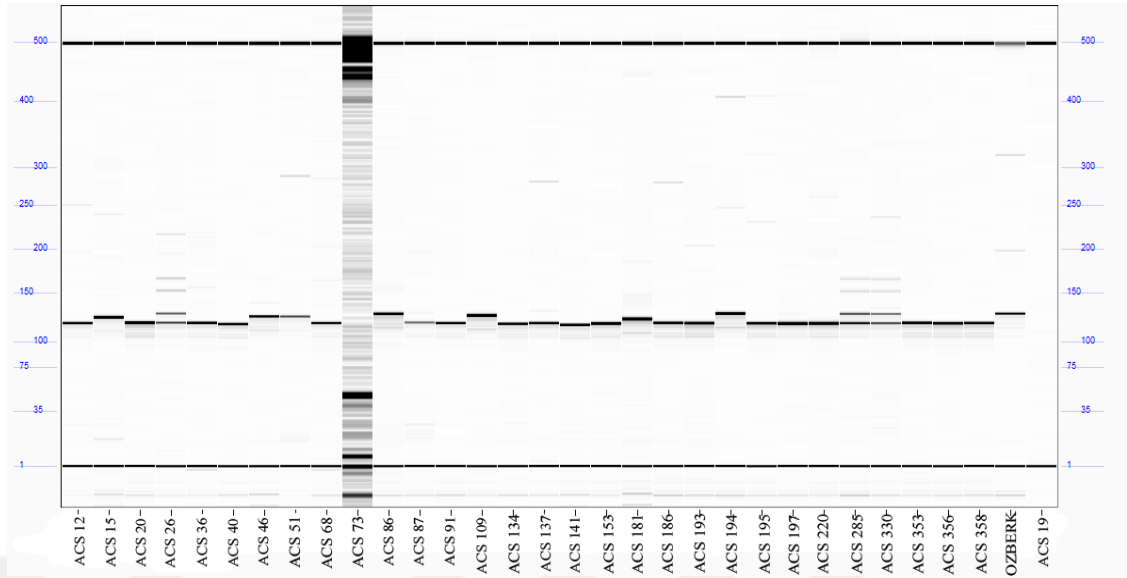
Şekil 4.13. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-4-120'ye ait jel görüntüsü



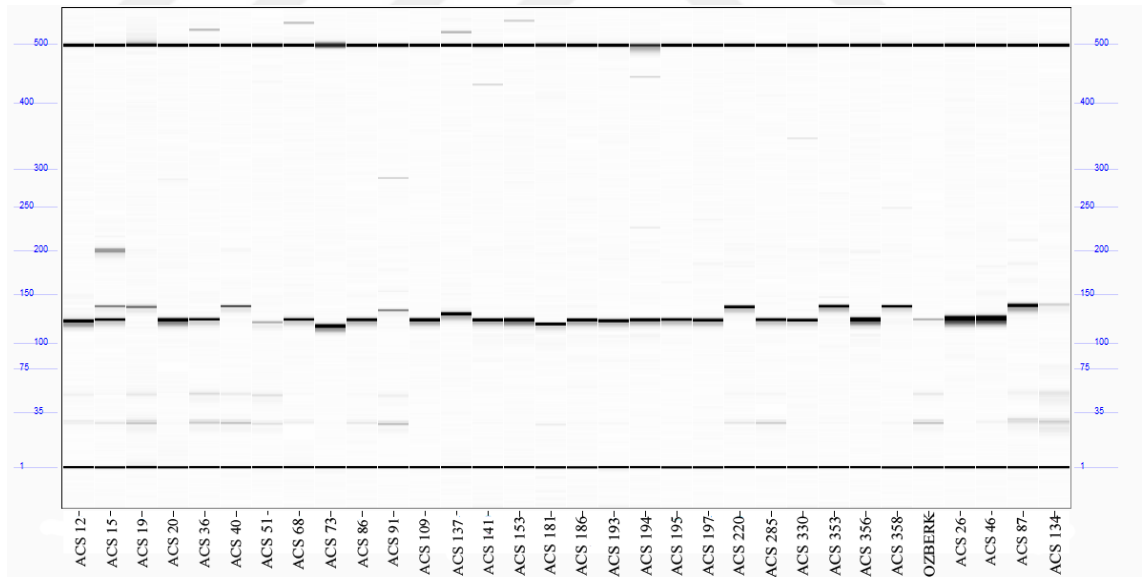
Şekil 4.14. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-6-251'e ait jel görüntüsü



Şekil 4.15. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-9-179'a ait jel görüntüsü



Şekil 4.16. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-10-168'e ait jel görüntüsü



Şekil 4.17. Fragment Analyzer™ ile yapılan analiz sonrasında marker S-I-10-112'ye ait jel görüntüsü

Yapılan skorlama işleminin ardından elde edilen veriler GenAlex programına girilmiş ve markelere ait genetik parametreler hesaplanmıştır.

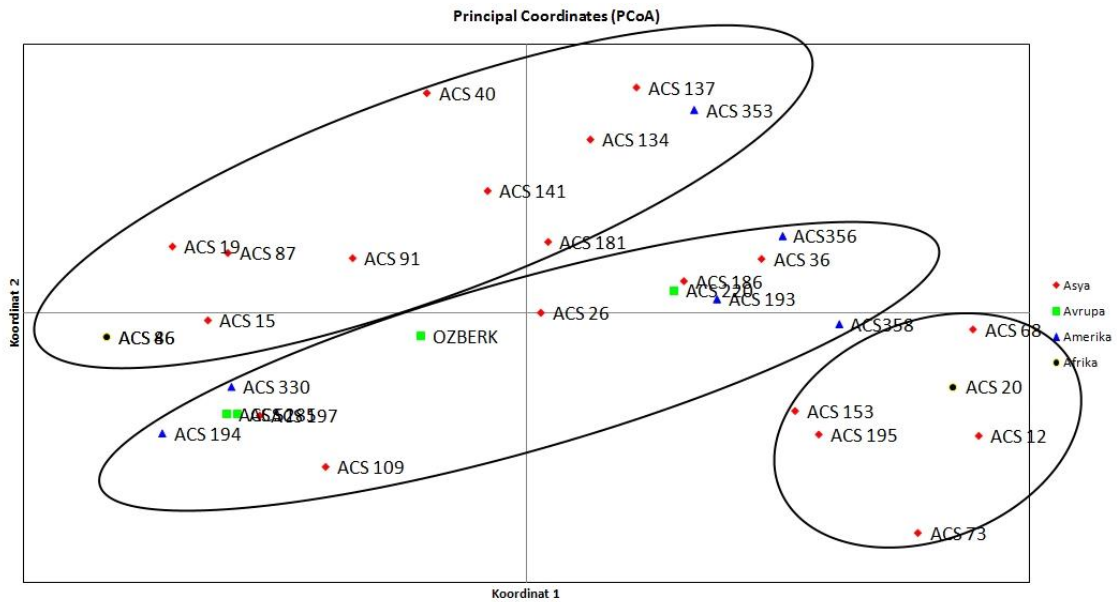
Çizelge 4.7 Indel markerlere ait genetik parametreler

Marker/Lokus	Na*	Ne	I	Ho	He	uHe	F	PIC(%)
S-D-1-106	1.25	1.03	0.05	0.00	0.02	0.03	1.00	6.05
S-D-1-121	1.75	1.55	0.45	0.00	0.31	0.36	1.00	32.26
S-D-4-165	1.75	1.55	0.45	0.00	0.31	0.36	1.00	32.26
S-D-5-157	2.00	1.90	0.66	0.03	0.47	0.56	0.95	37.47
S-D-7-143	2.00	1.89	0.66	0.03	0.47	0.54	0.94	35.30
S-D-8-223	2.00	1.83	0.64	0.15	0.45	0.52	0.61	36.55
S-D-8-178	2.00	1.65	0.54	0.07	0.37	0.44	0.64	29.87
S-D-9-128	1.75	1.58	0.47	0.05	0.32	0.36	0.84	62.22
S-D-12-124	2.00	1.69	0.58	0.25	0.40	0.48	0.33	31.08
S-I-1-192	2.00	1.72	0.59	0.10	0.41	0.48	0.66	35.76
S-I-3-248	1.75	1.70	0.51	0.01	0.36	0.42	0.96	37.47
S-I-4-120	1.25	1.12	0.13	0.01	0.08	0.08	0.82	19.48
S-I-6-251	2.00	1.84	0.63	0.10	0.44	0.51	0.67	37.47
S-I-9-179	1.75	1.44	0.40	0.09	0.26	0.31	0.51	24.98
S-I-10-168	2.00	1.73	0.60	0.12	0.41	0.48	0.71	31.88
S-I-10-112	1.75	1.55	0.46	0.01	0.31	0.34	0.96	33.03
Genel ortalama	1.81	1.61	0.49	0.06	0.34	0.39	0.76	32.69

*Na, Gözlenen allel sayısı; Ne, Etkili allel sayısı; I, Shannon diversity indeksi; Ho, Gözlenen heterozigotluk; He, beklenen heterozigotluk; uHe, Yansız beklenen heterozigotluk; F, Fiksasyon indeksi; PIC, Polimorfizm bilgi içeriği

Çalışma sonucunda ortalama allel sayısı 1.81 olarak elde edilirken, ortalama Shannon diversity indeksi 0.49 olarak belirlenmiştir. En yüksek indeks değeri 0.66 ile marker S-D-5-157 ve S-D-7-143’de gözlenmiştir. Beklenen heterozigotluk değeri ise ortalama 0.34 olarak elde edilmiş ve en yüksek değer 0.47 ile yine aynı markerlerde gözlenmiştir. Benzer çalışmalar incelendiğinde Osorio vd. (2017) *Lupinus Luteus L.* bitkisinde InDel markerleri kullanarak genetik çeşitlilik hakkında birçok parametre elde etmişlerdir. Araştırmacılar lokus başına ortalama 2.76 allel elde ederken, gözlemlenen heterozigotluk değerinin (Ho) 0.06 ile 0.048 arasında değiştiğini, ortalamanın ise 0.247 olduğunu bildirmişlerdir. Ele aldığımız çalışmada ise gözlenen heterozigotluk 0 ile 0.25 arasında değişirken ortalama değerimiz bu çalışmaya kıyasla oldukça düşük elde edilmiştir. Benzer şekilde Dossa vd. (2016)’da SSR marker ile yaptığı çalışmada koleksiyonda gözlenen heterozigotluk değerini oldukça düşük bulmuştur. PIC değeri için en düşük %6.05 ile marker S-D-1-106’da gözlenirken en yüksek değer ise %62.22 ile marker S-D-9-128’de gözlenmiştir. Ortalama olarak elde edilen değer ise %32.69’dur. Elde edilen bu düşük değer ise InDel bölgelerinin yer aldığı lokusların susam genomunda korunan bölgelerde olabileceği ihtimalini arttırmaktadır (Chen vd. 2016).

Popülasyonların yapısını belirlemek amacıyla 32 susam genotipi için temel koordinat analizi (PCoA) yapılmıştır. Bakıldığında coğrafi konumları yakın kıtalara ait olan genotipler şemanın benzer (birbirine yakın) bölgelerinde kümelenmiştir (Şekil 4.1). Ancak ülkeler ve kıtalar arasında net bir farklılık görülmemiştir. Koleksiyonun %27.66 PC1 tarafından, %14.93'ü PC2 tarafından açıklanmıştır (Çizelge 4.8). Her kıtayı temsil eden genotipler farklı renklere boyanmıştır. Renk dağılımları incelendiğinde; kırmızı renkler Asya, yeşil renkler Avrupa, mavi renkler Amerika, siyah renkler ise Afrika ülkelerinden köken alan genotipleri temsil etmektedir. Dossa vd. (2016) Afrika ve Asya'da altı coğrafi bölgeye dağılmış 22 ülkeden köken alan toplam 96 susam genotipini 33 polimorfik SSR marker ile genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısını belirlemek için kullandıkları çalışmada elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak çoğu genotipin coğrafi kökenlerine göre aynı popülasyonda toplandığını belirtmişlerdir. Cui vd. (2017) 329'u Çin'in kuzey ve güney bölgelerinden, 37'si 11 farklı ülkeden toplanan toplamda 366 susam genotipinde SNP markerleri ile genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısı belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada Çin'in kuzeyi ve güney bölgelerin ve diğer 11 ülke genotiplerinin coğrafi konumlarına göre kümelendiği sonucuna ulaştıklarını belirtmişlerdir. Sharma vd (2009) Hindistan'ın farklı tarımsal ekolojik bölgelerini temsil eden yirmi susam genotipinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek için fenotipik ve moleküler belirteçler (RAPD) arasında bir karşılaştırma yapmışlardır. RAPD bazlı dendrogramdaki genotipler kendi coğrafi gruplarına toplanmıştır. Basak vd (2019) tarafından ele alınan çalışmada ise SNP temelli yapılan koordinat analizinde genotiplerin kökenlerine göre net bir şekilde ayrılmadıkları ifade edilmiştir. Susamın özellikle göç yoluyla taşınması bölgeler arasında keskin farklılıkların olmasına engel olduğu ayrıca bu çalışmada belirtilmiştir. Laurentin ve Karlovksy (2007)'de AFLP marker ile ele aldıkları çalışmada benzer sonuçları ifade etmişlerdir.



Şekil 4. 2. Temel koordinat analizi (PCoA) sonucu genotiplerin birbirinden ayrılması

Çizelge 4.8. PC koordinatı yüzdesel değeri

Koordinat	Yüzdesel Değer
PC1	27.66
PC2	14.93

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışması ile 95 susam genotipinin yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak genom seviyesinde dizilemesi sonrası her bir genotipe ait okumalar öncelikle barkod ve adaptörlerinden temizlenmiş, referans genom ile eşleme işlemi yapılmış ve daha sonra tüm varyantlar belirlenmiştir. İçinde SNP, insersiyon ve delesyon bölgelerini bu varyant dosyaları önce birleştirilmiş ardından sadece insersiyon ve delesyon bölgeleri filtrelenmiştir. Yapılan çalışmada referans genoma kıyasla 2 ve üzeri bp büyüklüğünde 785 InDel bölgesi bulunurken bunun 438 tanesini delesyon bölgesi 347 tanesini ise insersiyon bölgesi oluşturmuştur. En fazla InDel kromozom 3'de gözlenirken en az ise kromozom 13'de yer almaktadır. Ayrıca en yüksek delesyon ve insersiyonda kromozom 13'de gözlenmiştir. Çalışmamızda en büyük InDel uzunluğu 14 bp olarak kaydedilmiştir. Toplam tez kapsamında 8 bp üzeri InDel sayısı ise 86 olarak bulunmuştur. 53 delesyon ve 33 insersiyon bölgesi tanımlanırken en fazla delesyon kromozom 11 de en fazla insersiyon ise kromozom 6 da gözlenmiştir. 38 InDel marker (24 delesyon, 14 insersiyon) validasyon için seçilmiş ve seçilen her bir InDel bölgesi için primer dizaynı öncesi referans genom üzerinde InDel bölgeleri IGB Genome Browser programında görüntülenmiştir. Daha sonra referans genomdaki dizi dikkate alınarak her InDel bölgesi için Primer 3 programında primer dizaynı yapılmıştır. Tüm markerler bulk DNA kullanılarak testlenmiş ve beklenen bölgelerde bantlar amplifiye olmuştur. Seçilen markerler ile genetik çeşitlilik çalışması yürütülmüş ve 16 markerin 32 genotipin yer aldığı çalışmada ortalama allel sayısı 1.81, efektif allel sayısı 1.61, gözlemlenen heterozigotluk 0.06, beklenen heterozigotluk 0.34 olarak elde edilmiştir. Ayrıca popülasyonların yapısını belirlemek amacıyla 32 susam genotipi için temel koordinat analizi (PCoA) yapılmıştır. Koleksiyonun % 27.66'sı PC1 tarafından, %14.93'ü PC2 tarafından açıklanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Ali, G.M., Yasumoto, S. and Seki-Katsuta, M. 2007. Assessment of genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.) detected by amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Electronic J. of Biotechnology*, 10: 12–23.
- Ashri, A. 2007. Sesame (*Sesamum indicum* L.). In: R.J. Singh (Editor). Genetics Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement. Vol.4, Oilseed Crops, CRC Press. Florida, pp. 231-289.
- Atakışi, İ.K. 1999. Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları: 148, Ders Kitabı, Tekirdağ, 177 s.
- Basak, M., Uzun, B. and Yol, E. 2019. Genetic diversity and population structure of the Mediterranean sesame core collection with use of genome-wide SNPs developed by double digest RAD-Seq. *Plos One*, 14(10): e0223757.
- Baydar, H. 2005. Susamda (*Sesamum indicum* L.) verim, yağ, oleik ve linoleik tipi hatların tarımsal ve teknolojik özellikleri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2): 267-272.
- Baydar, H., Turgut, I. and Turgut, K. 1999. Variation of certain characters and line selection for yield, oil, oleic and linoleic acids in the Turkish sesame 67 (*Sesamum indicum* L.) populations. *Turkish J. of Agriculture Forestry*, 23: 431-441.
- Bedigian, D. 2004. History and lore of sesame in Southwest Asia. *Economic Botany*, 58: 329-353.
- Bedigian, D. and Harlan, J.R. 1986. Evidence for cultivation of sesame in the ancient world. *Economic Botany* 40: 137-154.
- Bedigian, D., Seigler, D.S. and Harlan, J.R. 1985. Sesamin, sesamolin and the origin of sesame. *Biochemical Systematics Ecology*, 13: 133-139.
- Bedigian, D. 1981. Origin, diversity, exploration and collection of sesame. In: Sesame: Status and Improvement. FAO Plant Production and Protection Paper 29. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp 164–169
- Bhat, K.V., Babrekar, P.P. and Lakhanpaul, S. 1999. Study of genetic diversity in Indian and exotic sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 110: 21-33.
- Brar, G.S. and Ahuja, K.L. 1979. Sesame, its culture, genetics, breeding and biochemistry. *Annual Review of Plant biology Sci*, 1: 245–313.
- Chen, H., Chen, X., Tian, J., Yang, Y., Liu, Z., Hao, X, vd. 2016. Development of gene-based SSR markers in rice bean (*Vigna umbellata* L.) based on transcriptome data. *Plos One*, 11(3): e0151040.doi:10.1371/journal.pone.0151040
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y. and Gu, J. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor *Bioinformatics*, 34, pp. 884–890.

- Cho, Y., Park, J.H., Lee, C.W., Ra, W.H., Chung, J.W., Lee J.R., Ma, K.H., Lee, S.Y., Lee, K.S., Lee, M.C. and Park, Y.J. 2010. Evaluation of the genetic diversity and population structure of sesame (*Sesamum indicum* L.) using microsatellite markers. *Genes & Genomics*, 33: 187-195.
- Costa, F.T., Neto, S.M., Bloch, J.R. and Franco, O.L. 2007. Susceptibility of human pathogenic bacteria to antimicrobial peptides from sesame kernels. *Current Microbiology*, 55: 162-166.
- Cui, C., Mei, H., Liu, Y., Zhang, H. and Zheng Y. 2017. Genetic Diversity, Population Structure, and Linkage Disequilibrium of an Association-Mapping Panel Revealed by Genome-Wide SNP Markers in Sesame. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1189.
- Dar, A. A., Mudigunda, S., Pramod Kumar Mittal, P.K. and Arumugam, N. 2017. Comparative assessment of genetic diversity in *Sesamum indicum* L. using RAPD and SSR markers. *Biotechnology*, 7: 10
- Dossa, K., Li, D., Wang, L., Zheng, X., Yu, J., Wei, X., et al. 2017. Dynamic transcriptome landscape of sesame (*Sesamum indicum* L.) under progressive drought and after rewatering. *Genomics Data*, 11: 122–124.
- Dossa, K., Wei, X., Yanxin Zhang, Y., Fonceka, D., Yang, W., Diouf, D., Lia, B., Cissé, N. and Zhang, X. 2016. Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Sesame Accessions from Africa and Asia as Major Centers of Its Cultivation. *Genes*, 7:14. doi: 10.3390/genes7040014.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12: 13–15.
- FAO (Food and Agriculture Organization) 2018. FAOSTAT. [2020-03-02]. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>
- Filiz, E. and Koç, İ. 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. GOÜ, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 207-214.
- Frank, J. 2005. Beyond vitamin E supplementation: An alternative. strategy to improve vitamin E status. *Journal of Plant Physiology*, 162: 834-843.
- Girardot, C., Scholtalbers, J., Sauer, S., Su, S.Y. and Furlong, E.E.M. 2016. Je, a versatile suite to handle multiplexed NGS libraries with unique molecular identifiers *BMC Bioinformatics*, 17: 419.
- Hernan, E. and Laurentin, T. 2007. Genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.): molecular markers, metabolic profiles and effect of plant extracts on soil-borne pathogenic fungi. Ph.D. Thesis, Georg-August-University, Göttingen, 107 p.
- Hess, D.E. and Dodo, H. 2004. Potential for sesame to contribute to integrated control of *Striga hermonthica* in the West African Sahel. *Crop Protection*, 23: 515-522.
- Iqbal, Z., Luo, D., Henry, P., Kazemifar, S., Rozario, T., Yan, Y. et al. 2018. Accurate real time localization tracking in a clinical environment using Bluetooth Low Energy and deep learning. *Plos One*, 13(10): e0205392.

- Jain, A., Roorkiwal, M., Kale, S., Garg, V., Yadala, R. and Varshney, R. 2019. InDel markers: An extended marker resource for molecular breeding in chickpea. *Plos One*, 14(3); e0213999.
- Johnson, L.A., Suleiman, T. M. and Lusas, E.W. 1979. Sesame protein: a review and prospectus. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56: 463-468.
- Joshi, A.B., Narayanan, E.S. and Vasudeva., R.S. 1961. *Sesamum. Book : Sesamum*. pp.109 pp.
- Joshi, S.P., Gupta V.S, Aggarwal R.K.,Ranjekar P.K. and Brar D.S, 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 1311–1320.
- Kapadia, G.J., Azuine, M.A., Tokuda, H., Takasaki, M., Mukainaka, T., Konoshima, T. and Nishino, H. 2002. Chemopreventive effect of resveratrol, sesamol, sesame oil and sunflower oil in the epstein–barr virus early antigen activation assay and the mouse skin two-stage carcinogenesis. *Pharmacological Research*, 45: 500-505.
- Kaur, I.P. and Saini, A. 2000. Sesamol exhibits antimutagenic activity against oxygen species mediated mutagenicity. *Mutation Research*, 470: 71-76.
- Kimura, M. and Crow, J. F. 1964 . The Number of Alleles That Can Be Maintained in a Finite Population. *Genetics*, 49(4): 725–738.
- Kumar, V. and Sharma, S. N. 2011. Comparative potential of phenotypic, ISSR and SSR markers for characterization of sesame (*Sesamum indicum* L.) varieties from India. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14: 163–171
- Laurentin, H. and Karlovsky P. 2006. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collection using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *BMC Genetics*, 7: 10.
- Laurentin, H. and Karlovsky, P. 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 1437–1446.
- Liu, J. R., Zheng, Y.Z. and Xu, R.Q. 1992. Analysis of nutrient quality of seed and screening for prominent germplasms in sesame. *Oil Crops of China*, 1: 24-26.
- Lovett, J.K., Coull, A.J. and Rothwell, P.M. 2004. Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. First published February 23, DOI: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000110311.09970.83>
- Nayar, N.M. 1995. Sesame. In *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed., Smartt, J. and Simmonds, N.W., Eds. Longman, London, pp. 404–407.
- Nayar, N.M. and Mehra, K.L. 1970 Sesame: Its uses, botany, cytogenetics, and origin. *Economic Botany*, 24: 20–31.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 p.

- Nowlan, H.F., David, C.N. and Ann, E.L. 2016. Integrated genome browser: visual analytics platform for genomics. *Bioinformatics*, 32, (14): 2089–2095.
- Osorio, C.E, Udall, J.A., Salvo-Garrido, H. And Maureira-Butler, I.J. 2017. Development and characterization of InDel markers for *Lupinus luteus* L.(Fabaceae) and cross-species amplification in other Lupin species, *Electronic Journal of Biotechnology*, 31: 44–47.
- Pandey, S.K., Das, A., Pooja Rai, P. and Dasgupta, T. 2015, Morphological and genetic diversity assessment of sesame (*Sesamum indicum* L.) accessions differing in origin. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21: 519–529.
- Parsaeian, M., Mirlohi, A. and Saeidi, G. 2011. Study of genetic variation in sesame (*Sesamum indicum* L.) using agromorphological traits and ISSR markers. *Russian Journal of Genetics*, 47: 314–321.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology*, 6: 288–295.
- Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S. and Hoekstra, H.E. 2012. Double digest RADseq: An inexpensive method for *De Novo* SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *Plos One*, 7(5): e37135.
- Pham, D.T., Bui, M.T., Werlemark, G. et al. 2009. A study of genetic diversity of sesame (*Sesamum indicum* L.) in Vietnam and Cambodia estimated by RAPD markers. *Genetic Resources Crop Evolation*, 56: 679– 690.
- Ryu, S.N., Kim, K.S. and Kang, S.S. 2003. Growth inhibitory effects of sesamol from sesame seeds on human leukemia HL-60 cells. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 34: 237–241.
- Sharma, S.N., Kumar V. and Mathur S., 2009. Comparative Analysis of RAPD and ISSR markers for characterization of sesame (*Sesamum indicum* L) genotypes. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology*, 18(1): 37–43.
- Singh, K.M., Kumar, D.B., Dey Surjendu Kumar, D. S. and Manorama. 2015. Assessment of Genetic Diversity among Indian Sesame (*Sesamum indicum* L.) Accessions using RAPD, ISSR and SSR Markers. *Research Journal of Biotechnology*, Vol. 10 (8).
- Song, X., Wei, H., Cheng, W., Yang, S., Zhao, Y., Li, X., Luo, D., Zhang, H. and Feng, X. 2015. Development of INDEL markers for genetic mapping based on whole genome resequencing in soybean. *Genes, Genomes, Genetics*, 12: 2793–2799.
- Surapaneni, M., Yepuri V., Vemireddy, L.R., Ghanta, A. and Siddiq E.A. 2014. Development and characterization of microsatellite markers in Indian sesame (*Sesamum indicum* L.). *Molecular Breeding*, 34: 1185–1200.
- Ustun, R., Yol, E., Ikten, C., Catal, M. and Uzun, B. 2017. Screening, selection and real-time qPCR validation for phytoplasma resistance in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Euphytica*, 213: 159.
- Uzun, B., Arslan, Ç. and Furat, S. 2008. Variation in fatty acid compositions. oil content and oil yield in a germplasm collection of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 85: 1135–1142.

- Uzun, B., Arslan, Ç., Karhan, M. and Toker, C. 2007. Fat and fatty acids of the white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to Sesame (*Sesamum indicum* L.). *Food Chemistry*, 102: 45-49.
- Wang, L., Xia, Q., Zhang, Y., Zhu, X., Zhu, X., Li, D., et al. 2016. Updated sesame genome assembly and fine mapping of plant height and seed coat color QTLs using a new high-density genetic map. *BMC Plant Biolgy*, 17: 31.
- Wanga, J., Kong, L., Yu, K., Zhang, F., Shi, X., Wang, Y., Nan, H., Zhao, X., Lu, S., Cao, D., Li, X., Fang, C., Wang, F., Su, T., Li, S., Yuan, X., Liu, B. and Kong, F. 2018. Development and validation of InDel markers for identification of QTL underlying flowering time in soybean. *The Crop Journal*, 6: 126-135.
- Wei, X., Wang, L., Zhan, Y., Qi, X., Wang, X., Ding, X., et al. 2014. Development of simple sequence repeat (SSR) markers of sesame (*Sesamum indicum* L.) from a genome survey. *Molecules*, 19: 5150– 5162.
- Wei, X., Zhu, X., Yu, J., Wang, L., Zhang, Y., Li, D., et al. 2016. Identification of sesame genomic variations from genome comparison of landrace and variety. *Frontiers Plant Science*, 7: 1169.
- Weiss, E.A. 1971. Castor. Sesame and Safflower. Barnes and Noble Inc., Printed at the University. Press Aberden, Great Britain.
- Wu, D.H., Wu, H.P., Wang, C.S., Tseng, H.Y. and Hwu, K.K. 2013. Genome-wide InDel marker system for application in rice breeding and mapping studies. *Euphytica*, 192: 131–143.
- Wu, K., Yang, M., Liu, H., Tao, Y., Mei, J. and Zhao, Y. 2014. Genetic analysis and molecular characterization of Chinese sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars using Insertion-Deletion (InDel) and Simple Sequence Repeat (SSR) markers. *BMC Genetics*, 15(1): 35.
- Wu, W.H., Kang, Y.P., Wang, N.H., Jou, H.J. and Wang, T.A. 2006. Sesame ingestion affects sex hormones. antioxidant status. and blood lipids in postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, 136: 1270-1275.
- Yamaki, S., Ohyanagi, H., Yamasaki, M., Eiguchi, M., Miyabayashi, T. et al. 2013. Development of INDEL markers to discriminate all genome types rapidly in the genus *Oryza*. *Breeding Science*, 63: 246–254.
- Yang, J., Wang, Y., Shen, H. and Yang, W. 2014. In silico identification and experimental validation of insertion-deletion polymorphisms in tomato genome. *DNA Research*, 21: 429–438.
- Yermanos, D.M., Hemstreet, S., Saleeb, W. and Huszar, C.K. 1972. Oil content and Composition of the seed in the world collection of sesame. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 49: 20-23.
- Yol, E., and Uzun, B. 2012. Geographical patterns of sesame (*Sesamum indicum* L.) accessions grown under Mediterranean environmental conditions, and establishment of a core collection. *Crop Science*, 52: 2206–2214. doi: 10.2135/cropsci2011.07.0355.

- Yoshida, H. and Takagi, S. 1997. Effects of seed roasting temperature and time on quality characteristics of sesame (*Sesamum indicum* L.) oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75: 19-26.
- Zhang, Y.X., Zhang, X.R., Che, Z., Wang, L.H., Wei, W.L. and Li, D.H. 2012. Genetic diversity assessment of sesame core collection in China by pheno type and molecular markers and extraction of a mini-core collection. *BMC Genetics*, 13: 102.



7. EKLER

7.1. Ek-1

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GATGAATTTAATTGAGTCCAACAA		
Start: 1	Length: 24 bp	Tm: 57.3 °C	GC: 29.2 % ANY: 7.0 SELF: 3.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	ATTTTCTGACTTAGGTGTTATGC		
Start: 180	Length: 25 bp	Tm: 57.2 °C	GC: 32.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 180 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GATGAATTTA	ATTGAGTCCA	ACAAATTTAAT
51	CACTTCATTA	ATCAAGTCTT	GTTTGCGGTC
101	CAAAACCAAG	TATATCTATA	TACAGGAAAA
151	GATATGCATA	AACACCTAAG	TCAGAAAAAT
		AAAAATTAGA	AAAGAA
☐ Select all Primers			

S-D-1-106 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TTCCAGGTGGAGATCCTGAC		
Start: 3	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 55.0 % ANY: 6.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	GGAGCGGAATTCTGGACATA		
Start: 204	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 50.0 % ANY: 6.0 SELF: 2.0
Product Size: 202 bp	Pair Any: 5.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TCTTCCAGGT	GGAGATCCTG	ACCACCAGCA
51	CATCTCTTCC	ATCCATCCTC	TGCATATGTA
101	AAATATATAT	ACACACGTAT	ATATGATTGT
151	GAATTATATA	TAAAAATACT	ACCTTCTCAG
201	CTCCTTCCAT	CGGAATCTGC	ATCACTACAA
251	CCAATTATTA	AGCGTTAGCA	CTCTTTG
☐ Select all Primers			

S-D-1-121 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1: Primer_F			
Sequence: GGGGAAATGATGGAGGGTTA			
Start: 4	Length: 20 bp	Tm: 60.9 °C	GC: 50.0 % ANY: 3.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1: Primer_R			
Sequence: CAAGTTCAACGTCACCAATTT			
Start: 252	Length: 21 bp	Tm: 57.6 °C	GC: 38.1 % ANY: 5.0 SELF: 3.0
Product Size: 249 bp		Pair Any: 4.0	Pair End: 3.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	AAAGGGGAAA	TGATGGAGGG	TTAATAAATG CGTGGGGCGA GGAGTGAGCA
51	TAAAGTTACC	AGTTTCCGCT	GCCGCCCTCA TTTAATCCGC AAAACCCTTG
101	TCACCTTTAC	TGCCCATCGT	TCTAGTAATT AATATTTTAA TAAATTTAAA
151	TTCAACCCAT	AACACATAA	TATAATAAAT AAATTATATA AAATGAAAAA
201	AGAAATATTC	ACATATTATT	ATGTGGAATT TAAATTGGTG ACGTTGAACT
251	TGTTATTTTA	TTTAACAATT	GATATACATT ATATG
☐ Select all Primers			

S-D-4-165 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1: Primer_F			
Sequence: GCGAAACACAGCCTAAAAGG			
Start: 1	Length: 20 bp	Tm: 59.9 °C	GC: 50.0 % ANY: 3.0 SELF: 3.0
☒ Right Primer 1: Primer_R			
Sequence: TGTTTGGAGCTTCCTCATTTG			
Start: 155	Length: 21 bp	Tm: 60.2 °C	GC: 42.9 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 155 bp		Pair Any: 5.0	Pair End: 2.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	GCGAAACACA	GCCTAAAAGG	CTAAACAAG AGTTGGATGC ATGAAAGTCT
51	GAGTACCGGG	CTTGTGTAAG	AGAATACATG TTAAACACGG GCTTAAGTTT
101	TGAACCTGAA	AATCATTTTA	TTCATGGTTT GAAACAAATG AGGAAGCTCC
151	AAACA AATTTC	TCTTGCTTAG	TGCATAAAAG TTCTGAAAGA TGGACC
☐ Select all Primers			

S-D-5-157 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GGATTTAATCGGGGAAGCAT		
Start: 46	Length: 20 bp	Tm: 60.1 °C	GC: 45.0 % ANY: 7.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TCCGATGTTTCTTCGAG		
Start: 262	Length: 20 bp	Tm: 60.2 °C	GC: 45.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 217 bp		Pair Any: 5.0	Pair End: 1.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	AAAATCAAAT	ACCAGAAGTC	AAAGGGAGAG
51	TAATCGGGGA	AGCATGTTCT	AATCTTAGCT
101	GGGCATGCAT	TTACCAGTAA	CACTGCTATT
151	CTTTGACGTT	CAAACTAGTA	AGATTTTGCA
201	TGGATTGCCG	GTCATCAAGC	ATTCTTCGT
251	GAAAACATCG	GATGGTTGCC	CCTGTTTCTT
301	TCATCG		
☐ Select all Primers			

S-D-7-143 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TCCTACGGTTGGATGTTGATG		
Start: 8	Length: 21 bp	Tm: 60.8 °C	GC: 47.6 % ANY: 7.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	ACGGGTGCGCTAACAACC		
Start: 157	Length: 18 bp	Tm: 62.1 °C	GC: 61.1 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 150 bp		Pair Any: 5.0	Pair End: 3.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	CGTCACATCC	TACGGTTGGA	TGTTGATGTT
51	CACTCATCGG	AACGTTTGAG	CGCCCAAAAG
101	TAGGGTAGTG	TGGGAGCAGT	TTATGATTGA
151	CACCCGT		
☐ Select all Primers			

S-D-8-223 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GTGTGCCCTAGTTTCGAGT		
Start: 25	Length: 20 bp	Tm: 59.2 °C	GC: 55.0 % ANY: 4.0 SELF: 1.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	GTGAGCTGGCGGTGATTATT		
Start: 222	Length: 20 bp	Tm: 60.1 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 198 bp		Pair Any: 3.0	Pair End: 1.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	TACTACACAC	CAAACACAAT	GCTGGTGTGC CCCTAGTTTC GAGTATTACC
51	GGCCTTTCCC	CCCCATATAC	AGCCAGGTCA ACACCCAAAC TACCATTCCA
101	ACAACCCTTC	ATCTCTTGTT	TAATTGCTTC TTTCGCTCTA CATTACAAC
151	CCTAAACCCC	ACCCTACACG	CCTCTTTCAT CTCTTTTCT AATCTCTCTA
201	CCATAATCA	CCGCCAGCTC	ACGGGTGATA TTGACCTTG TTGTAATCGA
251	A		
☐ Select all Primers			

S-D-8-178 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TGCATAGCAACATAAATGAGGAA		
Start: 12	Length: 23 bp	Tm: 59.6 °C	GC: 34.8 % ANY: 4.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CTCTTATGCATGGCCACCAC		
Start: 114	Length: 20 bp	Tm: 61.5 °C	GC: 55.0 % ANY: 6.0 SELF: 2.0
Product Size: 103 bp		Pair Any: 6.0	Pair End: 0.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	GTATTAATTC	CTGCATAGCA	ACATAAATGA GGAAAAAAT AAGTGTGGA
51	AAAGAAGAAA	AAGAGAATGA	AAGGCTTAAC TAACTCCAA CTTTGTGGTG
101	GCCATGCATA	AGAGATTATA	TTATGACACC TTTTAGTTA TTAAATAACC
151	TCATTGTAC	CAT	
☐ Select all Primers			

S-D-9-128 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TGCATGCATCTAAACCTTGAA							
Start: 54	Length: 21 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 38.1 %	ANY: 8.0	SELF: 3.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: AATTCGGCACATTTCAAAA							
Start: 215	Length: 21 bp	Tm: 59.5 °C	GC: 28.6 %	ANY: 5.0	SELF: 3.0		
Product Size: 162 bp		Pair Any: 5.0		Pair End: 2.0			
Send to Primer3Manager Reset Form							
1	GCGGAAGCGT	AGTGAAATTG	TAAAGTTCAT	TTTCGAACGA	ATTCAAATCA		
51	TAATGCATGC	ATCTAAACCT	TGAAGAAAA	TATAGTCTAA	ATCAACACGG		
101	TCCAAGAAAT	AGACTTCTTT	CATCAGTCCA	GTTAGAATGT	TTTGGAAATT		
151	AGACTAACAT	AGTAGCATAT	AATAAGGGTA	AATTACATTA	GAATTTTTTG		
201	AAATGTGCCG	AAATTAAATTA	TAGATATTTT	TCGTAATAG	TCTATTATTG		
251	GAATATATGA	TGTTAGACAG	TCATCACTTT	TATGTGGAGT	ATTTATAATT		
☐ Select all Primers							

S-D-12-124 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TCTTCATCTGTCACCCAAA							
Start: 27	Length: 20 bp	Tm: 59.1 °C	GC: 45.0 %	ANY: 3.0	SELF: 0.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: CTGTTAAGCGCCACTGTTGA							
Start: 199	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 50.0 %	ANY: 4.0	SELF: 1.0		
Product Size: 173 bp		Pair Any: 4.0		Pair End: 3.0			
Send to Primer3Manager Reset Form							
1	TTACCTGCCC	ATCGTACCAT	CCTGTTTCTT	CATCTGTCAC	CCCCAAAAC		
51	GAAAATATGA	GAGAGAGAGA	GAGAGATTCG	TCAGTAGTAG	TATTATTAAT		
101	TTATCATCGT	AAAAAGAAAA	GAATGTGTAA	GCATTCTGCA	TCAGACAGGA		
151	GTTAAAAAAG	AAAAAAAAC	CACTGACAT	CAACAGTGGC	GCTTAACAGG		
201	CGGTTGCCCA	CATAAGCCCA	GCCCCAATAC	ATCCTGACAA	CGGCAAGAAT		
251	GACAACGATA	AGCCCACTTG	AAG				
☐ Select all Primers							

S-I-1-192 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TTTTCACCTGTTTCGAGACCT							
Start: 34	Length: 21 bp	Tm: 58.8 °C	GC: 42.9 %	ANY: 6.0	SELF: 2.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: CTTTGAGCTGGAACGTGGAT							
Start: 207	Length: 20 bp	Tm: 60.3 °C	GC: 50.0 %	ANY: 4.0	SELF: 2.0		
Product Size: 174 bp		Pair Any: 4.0		Pair End: 0.0			
Send to Primer3Manager		Reset Form					
1	AGAAAAAGAA	TTATTATGTC	AAGCTAGCAT	TTATTTTCAC	CTGTTTCGAG		
51	ACCTATATTA	ACATCTGCAT	AAATACTACA	CTTTTGATGAT	TCCATTGGTC		
101	TATGTACAAT	ATAGTTCAC	CTTTATCTAT	ACTCTGGTAA	AGGGGAGGTA		
151	TATTACTTCT	GTCAAATGTG	TTAACAACCT	CGATATTATC	CACGTTCCAG		
201	CTCAAAGATA	TGGCAGAGAG	ATTGCCTCCC	GGTG			
☐ Select all Primers							

S-I-3-248 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TTGTTGGAAGGACTAAAATTGAAA							
Start: 195	Length: 24 bp	Tm: 59.1 °C	GC: 29.2 %	ANY: 4.0	SELF: 2.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: GGGCAATGTGCACCTTTTA							
Start: 498	Length: 19 bp	Tm: 59.5 °C	GC: 47.4 %	ANY: 8.0	SELF: 2.0		
Product Size: 304 bp		Pair Any: 5.0		Pair End: 3.0			
Send to Primer3Manager		Reset Form					
1	ATTCACCTCT	CCTCAATCAA	TTTTCATTTT	CATTTACTTC	CCTTTATATG		
51	GGTAGAGAGA	GAGAAAAGTG	AAAGAGGGGT	CTCTTTTTTT	TTTCTTGTGC		
101	CAACATCCTT	GTAGGACGCT	ATGTATTAA	TTGAGCCTA	TTTGACAGTC		
151	GGAACCTTAA	GCCCCAATTT	GTCCGGCTAA	AATCTGGTAA	CTTTTGTGTTG		
201	GAAGGACTAA	AATTGAAACT	TACAGAATTA	AAATGCCAGA	ACAATATTTA		
251	AGGGATTAAT	TTTGCCACCT	CCCTATACAT	ACAGGACTAA	TTTTGCCTAA		
301	CAAAAAGCTG	GGTGAAAATA	TGGGTCATAA	CTATAGGTAA	AAATTTTTTT		
351	GACAGAAACT	TAACTGCGAT	AACATATAG	AATACAAGTG	CAATTTTATA		
401	TTATCCCCCG	TTATATTCAA	ATATTTAAAT	TATAAGCCCA	TGTCAAAAAA		
451	AAATGCGCCA	CATCACCCCC	TATATTTTTT	AAAAGGTGCA	CATTGCCCTT		
501	TCATATCTCT	TACGTTAACA	TTGCAAGTGC	AATGACCTTA	ATGCGGCGCC		

S-I-4-120 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	ATTGCATTTGGGCTGGATTA		
Start: 3	Length: 20 bp	Tm: 60.3 °C	GC: 40.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CCCCCTCGAAACAATAATG		
Start: 230	Length: 20 bp	Tm: 59.4 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 0.0
Product Size: 228 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 3.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	CAATTGCATT	TGGGCTGGAT	TAGCCCATAC AGTCAAAATC TGTATTTGGA
51	TCGAATCTTA	ATTTGCTTGT	GTGTCGATTC CAGTATTAAG TATCTTCAAA
101	TTCTGCAAAT	AATTTTATAA	TGGGTATTTT TAAATTTATT ATAATTATAA
151	ATATCTATTA	ATTGTTTAAA	AAATTATAAA TAATCTCTA AAATTAACGA
201	TCATTTAATA	CATTAGTTGT	TTCGAGGGGG TA
☐ Select all Primers			

S-I-6-251 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	CATTCCCTTCAAAACCCACA		
Start: 20	Length: 20 bp	Tm: 60.7 °C	GC: 45.0 % ANY: 3.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TGCAACGCTTGCAAGAAAC		
Start: 232	Length: 19 bp	Tm: 61.1 °C	GC: 47.4 % ANY: 8.0 SELF: 0.0
Product Size: 213 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	ATGCTCCTCC	TCGACCTAAC	ATTCCCTTCA AAACCCACAT AAGATAGGTA
51	TACACACACC	ATAATCACGC	CATTTTATAC ACTAGAGCTG AAGAAAGAGA
101	AAAGCCCACC	TGAAAACGAA	GAAGCTTTGA ATGAGTTCTG ATTTCACTCC
151	AATACCAATG	AATACAGATT	CCAACATAAA CAAGTAGGTG TAATCTGATG
201	ACTACTCTCG	AGGTTTCTT	GCAAGCGTTG CAAGAATTA
☐ Select all Primers			

S-I-9-179 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help		
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code		
< Back					
Pair 1:					
☒ Left Primer 1:	Primer_F				
Sequence:	TCTATTCTGACATTGACCGGATT				
Start: 29	Length: 23 bp	Tm: 59.8 °C	GC: 39.1 % ANY: 5.0 SELF: 3.0		
☒ Right Primer 1:	Primer_R				
Sequence:	TCACAAAACAACCAAAGTTGC				
Start: 180	Length: 22 bp	Tm: 60.1 °C	GC: 36.4 % ANY: 4.0 SELF: 2.0		
Product Size: 152 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0			
Send to Primer3Manager Reset Form					
1	TGGAGTTTAA	TACGTACTTG	TAAAGACATC	TATTCTGACA	TTGACCGGAT
51	TATAAAGGTC	ATTGATGACT	ATTATTTTGG	ATGTTTTCGT	GTATTATTTTC
101	TACTTTTAAC	ATTCAAAAGA	AAACAAATGA	CAAAAAAAGA	AAGAAAGCAG
151	TCTTTTACGC	AACTTTGGTT	GTTTTTGTGA	ATAGCTCCAA	ATCTATTTAG
201	GATACAATAA	TTTGTATTTT	TAATTTATTG	TTTAGATTTG	CA
☐ Select all Primers					

S-I-10-168 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help		
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code		
< Back					
Pair 1:					
☒ Left Primer 1:	Primer_F				
Sequence:	TGATGGAGTAATTGAAAGTGTACG				
Start: 2	Length: 24 bp	Tm: 58.3 °C	GC: 37.5 % ANY: 4.0 SELF: 2.0		
☒ Right Primer 1:	Primer_R				
Sequence:	CAAAAGCAGAGTTGACCGTATG				
Start: 156	Length: 22 bp	Tm: 59.8 °C	GC: 45.5 % ANY: 3.0 SELF: 2.0		
Product Size: 155 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 2.0			
Send to Primer3Manager Reset Form					
1	GTGATGGAGT	AATTGAAAGT	GTACGTAGTT	ATACCATTAC	CATCAATTTA
51	CTATTCTATT	ACGATTGTTT	CATCCAATTT	CACTCACACA	TGTGAACCTA
101	TCCCAACAT	AACTTTCTTA	AATTAATAAT	TATTCATACG	GTCAACTCTG
151	CTTTTGAGTT	TCATATTAAA	ATTGTATTAA	CTT	
☐ Select all Primers					

S-I-10-112 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	ATGGGCCTGTACCGGTACTA		
Start: 2	Length: 22 bp	Tm: 59.7 °C	GC: 50.0 % ANY: 8.0 SELF: 3.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TTTTTGAGTGAATGACTATGATTACAT		
Start: 224	Length: 27 bp	Tm: 57.5 °C	GC: 25.9 % ANY: 5.0 SELF: 3.0
Product Size: 223 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	AATGGGCCTG	TACCGGTATA	CTATATAGTC TACTATTGGT CCATAAACAG
51	AGTTCAGCCC	AAATTTATTT	GAAAAATAGG CCATTATCTA ATATGCAAGC
101	ATATATAATA	TAAATAGTAT	TGGTATATTT TAATAATTAT AATTTTATTT
151	ATATATATTT	GATCTTGATA	ATTACATATA TAATGAGTAT TGTAAATAATG
201	TAATCATAGT	CATTCACCTCA	AAAAAGGCAA ATACACACAT ATATAAAAT
251	TCTGATCAAA	TTGAGTTTGG	CTATTTATAT ATCATATAAG ATATAAATAT
301	AGTGAC		
☐ Select all Primers			

S-I-9-836 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	CAGCGGATTGTGCTTGTTA		
Start: 10	Length: 20 bp	Tm: 59.9 °C	GC: 45.0 % ANY: 3.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	GACTCTAACTTTACCCAATTCTTTAGG		
Start: 170	Length: 27 bp	Tm: 58.5 °C	GC: 37.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 161 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TTTGGATTG	AGCGGATTG	TGCTTGTTAA TGGGTATGTA TTGTCCTATT
51	TGGACTCGAC	CCAACAAATA	TCCATGACAA TTTTAAATA CATTATCCAT
101	ATTTTACTCG	ATAAAATACA	CATAGGATCT TACTCAAATT ATACCTAAAG
151	AATTGGGTAA	AGTTAGAGTC	TTATTCATTT
☐ Select all Primers			

S-I-9-404 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	CGGAACCTCTCAGTGATAAGAGC		
Start: 11	Length: 24 bp	Tm: 60.8 °C	GC: 45.8 % ANY: 7.0 SELF: 3.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TCCACCTGTTCCATCCTCTC		
Start: 363	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 55.0 % ANY: 2.0 SELF: 0.0
Product Size: 353 bp	Pair Any: 5.0	Pair End: 2.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TGAAGCATAC	CGGAACCTCT	CAGTGATAAA GAGCTTGAGA GAAAGTGAAA
51	ACCTACAGGT	ATTTTCTTTC	AAATTGCTTC TAAAAGAAAC CCCAGCCAAC
101	TTGAAATAT	ATCCTGGTAT	ATTGTGTTCTT ATTCTATCTC TATAATCAGT
151	TCAGAAAAGT	ATGTCGGTAG	ACTAAAGTGT CATTGTATAG TTTCCAACAT
201	ATCTTACTAT	ATGTATTGAT	TTTACCTTTT GCTGATGGGT GAGGCAATTC
251	AGAAAATTGT	GCTTATAAAG	TTGGCTTCAT AACTCTTTGG TGAAGCATTAA
301	ATAGTGTAAT	ATCTGTGGTT	TCTTCAATTC CATCTTTTCC TTTGAGAGGA
351	TGGAACAGGT	GGAAGTACT	ACA

S-D-9-171 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TCAAGCCTTAATCGGAGACC		
Start: 34	Length: 20 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 50.0 % ANY: 5.0 SELF: 1.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TTCTGCTCTCAGCGTATTC		
Start: 464	Length: 20 bp	Tm: 59.2 °C	GC: 50.0 % ANY: 6.0 SELF: 2.0
Product Size: 431 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	CATAGTTAAC	AACACCGGCC	TTCTCGAATC TGATCAAGCC TTAATCGGAG
51	ACCCCAAGAC	TGCTGCAATG	GTAAAGGATT ACAGTGCTGA TCCCTTTCTC
101	TTTGCAAAAG	ACTTTGCTGC	CTCAATGGTG AAGCTTGGCA AACTGGGTTT
151	GATCACGGGA	CAAGATGGAC	AAATCAGAAA GAAATGTAGT GTCGTGAAC
201	AGTAATTATA	CCGTCCCGTC	TAGGAAGTAT ATATTGCCAT GATTGTTATG
251	TATGATCGAA	CGATTCAAT	GTCTTAGACG ACTATGTCTT GGTACCGTGT
301	TACAAAAATT	AATTGTGACA	GGACATGCTT TAGTTTGTGA AAAACAAAAA
351	ATAATAATGA	TAATAATAAA	AATTGTAGTA TATTTGTGTT GAAAACATTC
401	CATAAAGTTT	TGGTTAATTT	AAAATGAAGG GAGGTAAGAG AAAAGAATAC
451	GCGTGAGAGC	AGAAAGAGTTC	AAGAGAATAG GGACAAGCTT GGAATCAGAA

S-D-8-255 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TGATTTTGGGATCTTGAACGA		
Start: 31	Length: 21 bp	Tm: 60.4 °C	GC: 38.1 % ANY: 4.0 SELF: 3.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TTGCCTGCTTTATGTGATGC		
Start: 183	Length: 20 bp	Tm: 59.8 °C	GC: 45.0 % ANY: 2.0 SELF: 2.0
Product Size: 153 bp	Pair Any: 3.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	AGAAAAAATA	AACCCCTTCTT	TGAATTTTAA TGATTTTGGG ATCTTGAACG
51	AGTTTACATC	AATTATATGA	CAATTATAAA TATATTTATA ATATAATTAA
101	TTTGATTCCA	TCAAATCTAA	TTTAAACAAA TATGCTTCAC TTCCATTAT
151	TTCTCCAAAA	GCTGCATCAC	ATAAAGCAGG CAATTATTTG AAATCACTGT
201	AAATAAGTAT	GAGTTCA	
☐ Select all Primers			

S-D-8-244 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	AATTGTATTGGAATCAGGTTTGG		
Start: 100	Length: 23 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 34.8 % ANY: 8.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CAGCCATATAGTTGGGTGGA		
Start: 249	Length: 20 bp	Tm: 58.4 °C	GC: 50.0 % ANY: 6.0 SELF: 0.0
Product Size: 150 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TTTTGCATT	AACATCAGAA	GTTATCATGT TATTTAGAA CATAGGATTA
51	CATCGTACTA	TGATTCATCT	GTATTACTAT ATGAACAGAC CAATAGAAAA
101	ATTGTATTG	AATCAGGTTT	GGTATATAAA ACAAATCGTA TTATAAAAAA
151	TTTATTGCAC	CCGTATGTAA	ATTTTCTTAA ATTATACATT AATCATATAG
201	TAAATACAAT	GCAGTTATCG	TGTTGGGTGT CCACCCAACT ATATGGCTGG
251	G		
☐ Select all Primers			

S-D-8-230 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	CTGCAAGCAACAAACCAAAA		
Start: 10	Length: 20 bp	Tm: 59.9 °C	GC: 40.0 % ANY: 4.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TCTTCAAGAGCTCATGGCTACA		
Start: 176	Length: 22 bp	Tm: 60.2 °C	GC: 45.5 % ANY: 8.0 SELF: 2.0
Product Size: 167 bp	Pair Any: 3.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GCAGTATTCC	TGCAAGCAAC	AAACCAAAAT
51	TAGTCAAGTT	TCTGCGTCAT	GAAAAACCAG
101	ACAACAAAAA	AGAAGCTGAA	TTGATATTGA
151	TCAC	TGTAGC	CATGAGCTCT
☐ Select all Primers			

S-I-8-174 markeri için primer dizaynı

Pair 1:					
☒ Left Primer 1:	Primer_F				
Sequence:	CAGGCACCTCAAAGGAAGAG				
Start: 141	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 55.0 %	ANY: 4.0	SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R				
Sequence:	GGGAGGAGTCGTCTGTCGT				
Start: 950	Length: 19 bp	Tm: 60.3 °C	GC: 63.2 %	ANY: 5.0	SELF: 1.0
Product Size: 810 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 2.0			
Send to Primer3Manager Reset Form					
1	ACACAATAGT	GAAAAA	GACCCAGAAT	TGGAATAAAA	TTTGACGAAC
51	GGATGCAAAG	AGATGTGAAA	ATAACCTTCA	ATTTCATGAG	AAAATAGTGG
101	AAATCGGAGA	AAGCAAACTT	ACCTGAAGGA	GCTACTGAAT	CAGGCACCTC
151	AAAGGAAGAG	AAATCGAAGC	TGAGCGGACG	AGAAAGGCAG	AGAAAAAAG
201	AGGAGGGAAA	ACATGGAAAT	TGCAATTGAA	TGAGAACTGT	AAAGTAGAAG
251	AATGCTGCGA	CGTCGTTGTG	GGAGATAACT	ATTCTTACT	GCTCCTTCAC
301	TTTGCCAGGG	TTTTATCTTT	AAAAGCTGAT	CTCTAACTTT	ATACTATTTT
351	TGTAATCCAA	TTCTATTGAA	ATGCATAATT	CTCAAGCTAT	GACATGACAC
401	GTTAATATAT	CATCTTAGAC	TGGCTTAGGT	ATAATCCTAG	GOCTGAAAAT
451	ATGCAATCCA	AACATATTTT	CATTTT	CACAAAAACC	AATAACATAT
501	TATCACTCTG	TTAGAAATGC	ATGATAATAT	CACATATACA	CAACAATAAT
551	GCAAACTTGT	CAATTTATTT	TAATTAATTT	GCATTTGATC	CCAACCTGTT
601	TTAAATAATT	AGTCCATTTT	GAAACACATT	AAGATTAATT	ATTTAGGTCA
651	TCAATTTTAT	TAAAGAGTAG	AGATATAAAA	CTTGAAGTGC	ATTTCTAAAT
701	TTAAGCAATA	ATACAACTA	CAAAAATTGC	TTTCAATGGC	TAAAATATCT
751	TGGAATAGAT	GTAATATTTA	CACTAAGATT	AGGCATTTGC	AAATTGGAAG
801	GOCTCGAAAT	GAACTGAAAC	GATTGCTTA	AATCTGACTC	CAATCGCAAT
851	GOCTCAGACG	CGGAGGAAGG	AATCTACACT	CTTACAGTAC	CGAAACATCA
901	TCGAGGCCCT	GAAAGCTCTA	TGGCCTCAAT	AACGACAGAC	GACTCCTCCC
951	GGGCATCACT	AAAATTCCAA	GTGAAACTAA	ATGTTTGCC	TTGACAGAGG
1001	TCCACTCCAC	CTTGTGTTT	AGGATGCTCT	GTGTGTCGGT	TAATTCCTTC

S-D-8-120 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TTTACCTGGGGATTGAAGG		
Start: 20	Length: 21 bp	Tm: 60.2 °C	GC: 42.9 % ANY: 3.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CTAACGAGGTGGTGGGCAAT		
Start: 169	Length: 20 bp	Tm: 62.2 °C	GC: 55.0 % ANY: 2.0 SELF: 2.0
Product Size: 150 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GAAAGCGATT	AATATTAAAT	TTTACCTGGG GATTGAAGG GATTAAAGGA
51	GGAATAAGAG	GGAGTAAAT	TGTCAAAGG CTGCATATGT GTACTCTCTG
101	CAAGATTTTC	ATCGTCACCA	TGAGAAGATG AGATATCATC ACGGTATGT
151	TTGCCACCA	CCTCGTTAGC	TCCGC
☐ Select all Primers			

S-D-7-138 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GTCACCCTCAAGGAGATCCA		
Start: 35	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 55.0 % ANY: 5.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	AAACAGAAAGAAGAGAAAACCTTA		
Start: 272	Length: 26 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 30.8 % ANY: 3.0 SELF: 2.0
Product Size: 238 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GTCGTAGTAC	AACTGCTTAT	AGATCAGGAA ACTTGTCACC CTCAAGGAGA
51	TCCATTTAAG	GTGCTTGCAT	TAGAATCATA GTTGTTAAAG GCGCACGCCG
101	CGGCATGCGC	AAATTGTCAT	AAATAAATTA TATATTCATG TATTCATATA
151	TCTTTTAACT	TCAATATTAC	ACAAACAATT AAATACAATA AATCTTAGAA
201	ATTATATTAA	TCATATATC	ATAAAATATA TGTGTAAAC AACTAGTAAG
251	GGTTTTTCTC	TTCTTTCTGT	TTCTTTTGT AATTTTCTT TTACATTATT
301	GTATAACTTT	TTTTAAAAA	AATAAGTTAA AAGGTTTAA
☐ Select all Primers			

S-I-7-112 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GTGTGGCCGGAATCAAT		
Start: 50	Length: 18 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TGAAAGCAAACCTCAAGAGTG		
Start: 283	Length: 21 bp	Tm: 58.1 °C	GC: 42.9 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 234 bp	Pair Any: 3.0	Pair End: 2.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	ATAACGGGAA	AGAACTGGAG	GTGGGTTTGT TGGAGGGGAA ATGAATTTTG
51	TGTGGCCGGA	AATCAATTGG	AAATTGGGTG ATAACAATTT TGGTTCTTGG
101	GTTGTTCTTG	GCCCCATAAT	TTCATCGATG TCTTTTTCCT TTCTTTTATT
151	TTAAATTTTA	TTATTCTAGA	TAAATAGATT ATTTTAAGGG ATAATTACGT
201	ACTTTTTTTT	AAATTGGTGA	TAGTTATACG TAAATTTTAT GTGAATTGAA
251	AAATACATTT	AACTCTCTTG	AGGTTTGCTT TCATCTAATA AATAATTTTC
301	TCAATTAGTT	AAAATTTATT	GAATTAACAA ATATTAACAA AAAAGAATTA
351	ATATTACCAT	TGATTGATTT	ATTATTGATT TTGTTACAGG TCAAAATATT
401	TTTTTGAAC	AACTACCCT	TGTAAAGTAA AGATATATAT CTCCTCACAT

S-D-6-154 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	AGGCAGACCAGGGTTTACA		
Start: 47	Length: 20 bp	Tm: 59.6 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	GGTTTTAGCTCTAGAGGAAAGAAACT		
Start: 215	Length: 27 bp	Tm: 59.5 °C	GC: 37.0 % ANY: 8.0 SELF: 2.0
Product Size: 169 bp	Pair Any: 5.0	Pair End: 2.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TTTGCGGTGC	TAGCCCTCTT	TATTAGAGTG GAGAAGATGA CTCAGAAAGGC
51	AGACCAGGGT	TTTACAAAAC	CCTACAACAA TATATTTTAT ATGTATGTAT
101	TTTTGGCCTA	TACAGTAACG	GTTACTTTCC TCCTTTTTC GGCCCTTTT
151	TTTTTTTGG	GAATTAATAG	CTTTTATTTT CAATTTAAAG TTTTCTTTCC
201	TCTAGAGCTA	AAACCTTATT	TTTTGTCCGT CAATACTAAT ATAAAAAGAA
251	A		
☐ Select all Primers			

S-D-4-805 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: GAGCAGCAGCACCCATTAAC							
Start: 99	Length: 20 bp	Tm: 60.8 °C	GC: 55.0 %	ANY: 4.0	SELF: 2.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: GCAGTGGCTCAATTCTGGTT							
Start: 329	Length: 20 bp	Tm: 60.3 °C	GC: 50.0 %	ANY: 4.0	SELF: 0.0		
Product Size: 231 bp		Pair Any: 4.0		Pair End: 3.0			
Send to Primer3Manager Reset Form							
1	TGGCATTATT	TCTTTGTTCA	ACTCTTTTGG	GGCATAAGAA	GAAGTAGAAC		
51	CAACTCCAGG	AGTTCCAATC	CCACCTAAGC	TACCAATATA	CTTCTGAA		
101	GCAGCAGCAC	CCATTAACCT	AAGAAGTCAA	AAGCAATTCA	AATCTCAATG		
151	GATAATACGG	CCAAATAAAA	GACATAAGGT	GTATGTATGC	ATAAGAAATG		
201	GAGGAGAGAA	ACACAATATT	TGCAATTAAT	TATATCGCCT	CCCCTCTTAT		
251	TTCACGAAAG	TGAAAAGATC	AAATATAATC	TCATGGAAGT	CAAATATATT		
301	GAATTCTGAA	ACCAGAATTG	AGCCACTGCA	AGCAAAGACC	ATACCAAACC		
351	AAACCAACAG	CAACAGTGAA	CAAGATAGTT	GA			

S-D-4-100 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TGGCATGGATGAACTGTT							
Start: 2	Length: 20 bp	Tm: 59.5 °C	GC: 45.0 %	ANY: 5.0	SELF: 3.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: TTAATTAATACACCAATGGCCTGT							
Start: 152	Length: 24 bp	Tm: 58.8 °C	GC: 33.3 %	ANY: 8.0	SELF: 3.0		
Product Size: 151 bp		Pair Any: 4.0		Pair End: 1.0			
Send to Primer3Manager Reset Form							
1	TTGGCATGGA	TGAACTGTT	CTTTTCTCTT	TTGTTGTCCT	CCTTGCAATC		
51	ATGAACAGAA	CCTTATTGTT	ATAATGTTAT	TGATGAGTTG	AATTAGATGT		
101	TGTCAACACT	AACAACATTT	AAAGTTTAC	AGGCCATTGG	TGTATTAAAT		
151	AAATAGT						
☐ Select all Primers							

S-I-3-130 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1: Primer_F			
Sequence: CAAATTCACATAACCAGCATTGA			
Start: 14	Length: 23 bp	Tm: 59.9 °C	GC: 34.8 % ANY: 4.0 SELF: 1.0
☒ Right Primer 1: Primer_R			
Sequence: GTCCGGGACGTGAAATTGAT			
Start: 257	Length: 20 bp	Tm: 62.1 °C	GC: 50.0 % ANY: 7.0 SELF: 2.0
Product Size: 244 bp		Pair Any: 7.0	Pair End: 1.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	AAAATATTGT	GTACAAATTC	ACATAACCAG CATTGAATTT TCCAATTGTG
51	AGAAATGTAG	AGTTAGGTGA	GCTAAGTAAT TAGAAATTAG GTGAATGAGC
101	TACATTTCAT	GCTTTCAGTT	AACCTTCTTC ACCTAAACCA AATCTCCATG
151	ATTGCAACCA	CAAAGACAAC	ACTGATGGAT ACAGCTCAAC TAGCTCTACA
201	CTACTCTATT	CTAGACTATT	CAAATCAATT GAGGTAAATC AATTTACCGT
251	CCCGGACATG	CGAGAATTGT	CTACAAAATC ATCGAGTGTA TTTCACAATT
301	CGACTATAAA	TAAAAATTTT	ATAAAAAAGA ATAAAAAATA AATGAACGAG
351	TGCATTTAAA	TTATTTAATC	AGAACTTACG TACTTATTTT ATTT

S-D-2-135 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1: Primer_F			
Sequence: GCTTCTTATTCACCTAAATGGTGCT			
Start: 56	Length: 25 bp	Tm: 59.3 °C	GC: 36.0 % ANY: 6.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1: Primer_R			
Sequence: TCGTCACCTTTTCTAAGAGAGCTT			
Start: 288	Length: 24 bp	Tm: 58.1 °C	GC: 37.5 % ANY: 5.0 SELF: 2.0
Product Size: 233 bp		Pair Any: 6.0	Pair End: 1.0
Send to Primer3Manager		Reset Form	
1	GTTTGAAAAA	AAAAGTTATT	TTTAGCTTTT AACTAGAATT TTTGAGTATT
51	TTGTAGCTTC	TTATTCACCT	AAATGGTGCT GAATTTAGAA CTTACTTATC
101	TACCAATCAC	TCAATTTTCA	ACTTAGAAGG TGGTTGGATG AGTTTATAAG
151	CTTGACAGAA	CGTCTGTAG	GATGTTCTGG AGTTTATAAA ATATTAATAG
201	TGTTTGTTAA	ACTTTTTTAA	AAAAAAACT TATAAATTCA AACAATAAGA
251	TTTTATAGGC	TTATAAGCTC	TCTTAGAAAA AGTGACGAGT TATTAGTGTA
301	TCTGTAAATC	AACAACTCT	TCCATCTTGT TCTGTCCAAA GACTCCAAAC
351	AATTTAGAAA	CATATTCTTA	AAATAAGTTG T

S-D-13-823 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus						Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence						About	Source Code
< Back							
Pair 1:							
☒ Left Primer 1: Primer_F							
Sequence: TCTCCGGACTGTCTGAAAGG							
Start: 133	Length: 20 bp	Tm: 60.4 °C	GC: 55.0 %	ANY: 6.0	SELF: 3.0		
☒ Right Primer 1: Primer_R							
Sequence: TGTCTTTGATCCGTTGGTCA							
Start: 758	Length: 20 bp	Tm: 60.1 °C	GC: 45.0 %	ANY: 4.0	SELF: 3.0		
Product Size: 626 bp		Pair Any: 4.0		Pair End: 2.0			
Send to Primer3Manager		Reset Form					
1	AAGCTGGAGG	AAACAAATGC	ACTAAAAGAT	CAAGAATCAA	CAACAAAGAC		
51	TAAATTTCCA	GCAACTTCAC	TATGAAAATT	TAAGGCAATT	AATCTGGAAA		
101	GGAGCAATGA	CAGGTAAAGTA	GTACAAGAAC	AACTCTCCGA	CTGTCTGAAA		
151	GGCGTGGGGA	CAAGATTGCA	GGTCACTGCA	TTCTTAATAA	AGAGAATAGC		
201	TGCAAGAGCA	TGAGGCACCA	GTGCCCTTCAC	GATTAAACATA	ATTTTTAAGC		
251	CTTTTCGTTC	TAAATAAGCT	AGATATCAGC	TATATTCACA	GGTAAAGGAT		
301	AAATGTTTTT	TAACAGGAAC	AATGGCACCA	TAATACTGGA	GGCACTGTAT		
351	TTCTTCAAAC	TATCTCTGGA	GTAATAATA	TTTAGTCCC	AGGTTTTCCA		
401	GAAAAGAAGC	CAACATAAAC	AAGCATGTAA	ATCCTGCTAA	TGCTTAGAAG		
451	CAAGAGAAAT	AAGATAGCTA	CAAGAACCTC	AAACAAGAAG	TGTTTCTAC		
501	TGTAAAAATT	GGATGGAATT	CTCATATGTT	ATATGTTGGA	AACTTGGAAC		
551	AAAATAGAAG	TACAACCGGA	TCATTGGTTC	ACCAAGTTCC	CAGAATTACT		
601	TTATGTTATC	CTCATAACTT	CTTGAATTAT	TGATCAAGTC	TTTAAAAAAT		
651	ATAACTTGGC	TGTTACTGGG	AGCTAAAAGA	AGAGAGGGGG	TCAATTTCTG		
701	CCACTGCATC	TAATGAGACA	CCATAAAAGG	TGTAGTAT	ACCAACGGAT		
751	CAAGACAAG	GTGGAATTC	TATTGTAGAA	AGGAGTACAT	TGCATTTTTT		

S-D-13-103 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	AATTAGCCGCCTTTTGGTT		
Start: 54	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 40.0 % ANY: 4.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TTGTTTGAATTGACGGTACG		
Start: 427	Length: 22 bp	Tm: 59.9 °C	GC: 36.4 % ANY: 5.0 SELF: 2.0
Product Size: 374 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 0.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GAGCTCCCAA	ATTAATTGCT	TGGTCAAAAA AGTATTGAAA GAAAAAGAAG
51	GCTAATTAGC	CGCCTTTTGG	GTTGTAATAA TTGAACCATA ACTAATGGTT
101	AATTATGTCA	TTTCCAGGAG	AAAAGTCGTT AAGTTAGTAG CAGTTGTAAT
151	AATTATCATC	AAGAAAAAAT	ATAATTGAAT TTTCTTTTCA TAAACATAAT
201	ACATATTTAA	AATGGAAGAA	ATTTAAGAAA AGGAGAAGGA TTGAGATTGA
251	GAGACCCAAC	TCCACATTGA	AAATGGTGAA TTCCCTACTC CACCTACTAA
301	AACTAACCCA	ACTGAATCAG	TAGCCTGATG GACCTACCCC TACCCCGGCA
351	AAAAGCTCCC	GCCATTAAAT	GTGCCTCCGA ACCCATTGAC GCATCACTAC
401	CGTACCGTAC	CGTCAATTTC	AAAACAAATTG AGAATTTTCAT TCCTACAAC
451	ACAATATTTG	CACGCCACTA	ACATAACCAAG AATCCAAAAT ATTTCCCGTA

S-D-12-113 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GGCAAAGAAATGCAGAGGAG		
Start: 22	Length: 20 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 0.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CACTTTCACCCACCCATCAT		
Start: 231	Length: 20 bp	Tm: 60.6 °C	GC: 50.0 % ANY: 3.0 SELF: 3.0
Product Size: 210 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 2.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	GGGTCAAGTT	TCTGTGGCAA	TGGCAAAGAA ATGCAGAGGA GTCGTCACAT
51	ATCAAAACGC	GTTATCTGCT	TTAGAACCGA CAACTTCATC AAAATCACTA
101	CCACTGTTTT	TGCCCCAAAA	TAACAGTAAT TATGTGTAAT TAATCAAAGG
151	TAAACAATGC	ATCTATATAT	TTGCTTCATT TTTAAGAAGG AAATAAATAC
201	TAAAGTAAAT	AATGATGGGT	GGGTGAAAGT GAAAGGAAAA ACAAGGGTAG
251	ATACATACAT	ACATAC	
☐ Select all Primers			

S-I-11-125 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TGTGCATCTTTGATACATGAATTTT		
Start: 8	Length: 27 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 25.9 % ANY: 8.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TCACACTGCGTTATTGATTTAATTT		
Start: 189	Length: 25 bp	Tm: 59.1 °C	GC: 28.0 % ANY: 5.0 SELF: 3.0
Product Size: 182 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 2.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	TTTGTAAATGT	GCATCTTTGA	TACATATGAA TTTTGAAATT ATATAATTCA
51	ACTTGAATAT	GATATTCTTC	TAGATAATTC ATTATTGTAT ATATAATTTA
101	AAAAATTAAT	TATATATTTA	GCAGTGGCGT TCAATTTTTT ATGATTTTTT
151	AAAATTTTAA	ATTAAATTA	AATCAATAAC GCAGTGTGAT TATATTCTAA
201	ATTAGCTCT	AATGGTCGTC	TT
☐ Select all Primers			

S-D-1-198 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	TTGACGAATAATTTTGTTCCTCA		
Start: 6	Length: 24 bp	Tm: 59.8 °C	GC: 25.0 % ANY: 6.0 SELF: 1.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	CCTGGTGGAAATGGAGTCAA		
Start: 188	Length: 20 bp	Tm: 60.9 °C	GC: 50.0 % ANY: 3.0 SELF: 3.0
Product Size: 183 bp	Pair Any: 6.0	Pair End: 3.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	CTGCTTTGAC	GAATAATTTT	TGTTTTCCAC CACGTAGAAG TAGTGTAGTT
51	TCATATGGTC	TAATCCCCAA	AATTGACCTG TTAGAGCAGA GGACTTTTCC
101	TTCGGCCTAA	ACGGGACAGG	GACTTGTCTG AGTCAATGAA CTATCCATTG
151	AGAAACGCAG	ATTTATAGTT	GACTCCATT CCACCAGGCC CAATGGCCAA
201	TACTT		
☐ Select all Primers			

S-D-1-124 markeri için primer dizaynı

Primer3Plus		Primer3Manager	Help
pick primers from a DNA sequence		About	Source Code
< Back			
Pair 1:			
☒ Left Primer 1:	Primer_F		
Sequence:	GGGGAGGTAATTATTCCGTGA		
Start: 75	Length: 21 bp	Tm: 60.0 °C	GC: 47.6 % ANY: 6.0 SELF: 2.0
☒ Right Primer 1:	Primer_R		
Sequence:	TATACACGTCCGCAAGAGCA		
Start: 226	Length: 20 bp	Tm: 60.4 °C	GC: 50.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0
Product Size: 152 bp	Pair Any: 4.0	Pair End: 1.0	
Send to Primer3Manager Reset Form			
1	CTCCCTCTCT	GACTTTTTTCG	GTCGACACAT CGGCTTGGTC TGACTAGTTG
51	GGAATTCCAC	CGTCGAAGCC	GCAGGGGGAG GTAATTATTC CGTGATTCT
101	TAGTCTTTTT	CTTTTAAATT	TCCTCTTGAT TTGTCTCTGC CGGGCTGGCA
151	CGTTCAATCG	CGATCATATG	GTCTGGCACT GATTATTTTC TTTATTGCGG
201	TGCTCTTGCT	CTTGCGGACG	TGTATAGACT TAAAGACTAT TTAGTGACTC
251	GAACGATTAT	GCTTCGTCCG	CGCTTCT
☐ Select all Primers			

S-I-1-101 markeri için primer dizaynı

ÖZGEÇMİŞ

SİBEL UZUNOĞLU

sibl.kzl@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2017-2020	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2012-2016	Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Kizil S., Başak M., Güçlü V., Uzun B., Yol E., "The effects of colchicine treatments on germination rate of sesame seeds. 3rd International Plant Breeding Congress", 3rd International Plant Breeding Congress, Girne, KUZHEY KIBRIS TÜRK CUM., 15-19 Ekim 2017, pp.77-77
2. Güçlü V., Çat A., Çatal M., Başak M., Kizil S., Uzun B., et al., "Detection of Fusarium spp. causing fusarium root rot on groundnut in Turkey", 3rd International Plant Breeding Congress, Girne, KUZHEY KIBRIS TÜRK CUM., 15-19 Ekim 2017, pp.78-78

