

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI



TÜRKİYE DOĞAL FLORASINDAN TOPLANMIŞ PELEMİR
(*Cephalaria syriaca*) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU VE ISLAHTA KULLANILACAK
GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERFİN İŞLER

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Yusuf ARSLAN

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Faheem Shehzad BALOCH

BOLU, EKİM - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Berfin İŞLER tarafından hazırlanan “Türkiye Doğal Florasından Toplanmış Pelemir (*Cephalaria syriaca*) Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu ve Islahta Kullanılacak Genotiplerin Belirlenmesi” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 20/10/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Yusuf ARSLAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Abdurrahim YILMAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Muhammad Azhar NADEEM
Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

.....

BERFİN İŞLER

ÖZET

TÜRKİYE DOĞAL FLORASINDAN TOPLANMIŞ PELEMİR (*Cephalaria syriaca*) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE ISLAHTA KULLANILACAK GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BERFİN İŞLER
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YUSUF ARSLAN)
(İKİNCİ DANIŞMAN: PROF. DR. FAHEEM SHEHZAD BALOCH)
BOLU, EKİM - 2023
(XII+ 46)

Bu çalışmada pelemir bitkisinin yaygın olarak görüldüğü 15 ilden toplanan 42 genotip ve 2 tescilli çeşit arasındaki genetik çeşitlilik araştırılmıştır. Çalışma yürütülürken 12 SCoT primeri kullanılmıştır. SCoT analizinde toplam 229 bant elde edilmiş olup 219'u polimorfik bulunarak %91.8 oranında polimorfizm elde edilmiştir. SCoT analiz verilerinde birbirine genetik olarak en yakın bulunan genotipler KMaraş1 (G47) ve KMaraş3 (G49), en uzak ise Muş1 (G84) ve Mrdn2 (G67) genotipleri olmuştur. Primerlerden elde edilen en düşük PIC değeri 0,26 ile SCoT5, SCoT16, SCoT21 ve SCoT30 primerlerinden elde edilirken, en yüksek değer 0,32 ile SCoT20 ve SCoT29 primerlerinden elde edilmiş ve genel ortalama değer 0,28 olarak belirlenmiştir. UPGMA kümeleme analizinde genotipler 5 ana gruba ayrılmıştır. Doğal popülasyon alanlarında çeşitlilik oranının yüksek olmasından dolayı polimorfizm değeri normaldir. Pelemir bitkisi ile ilgili daha önce yapılmış bir moleküler analiz çalışması bulunmamaktadır. Bu çalışma hem kapsam açısından hem de moleküler anlamda pelemir ile ilgili yapılmış öncü çalışma niteliğindedir. İleride yapılacak ıslah çalışmalarına fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Pelemir, Moleküler, SCoT, DNA analizi, Endüstri bitkileri

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PELEMIR (CEPHALARIA SYRIACA) GENOTYPES COLLECTED FROM THE NATURAL FLORA OF TURKEY AND DETERMINATION OF GENOTYPES TO BE USED IN BREEDING

MSC THESIS

BERFİN İŞLER

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

FIELD CROPS DEPARTMENT

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. YUSUF ARSLAN)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. FAHEEM SHAHZAD BALOCH)

BOLU, OCTOBER 2023

(XII+46)

In this study, genetic diversity of 42 genotypes and 2 registered cultivars of pelemir collected from 15 provinces was investigated. 12 SCoT primers were used during the study. A total of 229 bands were obtained and 219 of which were found to be polymorphic, resulting in 91.8% polymorphism. KMaraş1 (G47) and KMaraş3 (G49) genotypes found genetically closest to each other in the SCoT analysis data, while Muş1 (G84) and Mrdn2 (G67) genotypes were the most distant. The lowest PIC value obtained from the primers was obtained from primers SCoT5, SCoT16, SCoT21 and SCoT30 with 0.26, while the highest value was obtained from primers SCoT20 and SCoT29 with 0.32 and the overall mean value was determined as 0.28. In UPGMA cluster analysis, genotypes were divided into 5 main groups. The polymorphism value is normal due to the high diversity rate in natural population areas. There is no previous molecular analysis study on the pelemir plant. This study is a pioneering study on pelemir both in terms of scope and molecular sense. It is thought that it will benefit the breeding studies to be carried out in the future.

KEYWORDS: Pelemir, Molecular, SCoT, DNA analysis, Industrial plants

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	x
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Materyal	18
3.1.1 Bitki Materyali.....	18
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Moleküler Analizler.....	20
3.2.1.1 Dna izolasyonu	20
3.2.1.2 DNA Optimizasyonu.....	21
3.2.1.3 SCoT Analizi.....	21
3.2.1.4 Jel Elektroforez Uygulaması	23
3.2.2 Veri Değerlendirmeleri.....	26
3.2.3 SCoT Markörleri ile Genetik Varyasyon Değerlerinin Eldesi	26
3.2.3.1 Polimorfizm oranı (PO).....	26
3.2.3.2 PIC değeri (Polimorphism Information Content)	26
3.2.3.3 H değeri (Genetik Varyasyon)	26
3.2.3.4 I değeri (Shannon İndeksi).....	26
3.2.3.5 NE değeri (Etkili Allel Sayısı)	26
3.2.3.6 HT değeri (Toplam Genetik Varyasyon)	26
3.2.3.7 GM değeri (Genetik Mesafe)	27
3.2.3.8 ΔK değeri	27
4. BULGULAR	28
4.1 DNA Miktar ve Kalite Değerlendirmesi.....	28
4.2 SCoT Analizi	29
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
7. KAYNAKLAR	42

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 1. Pelemir (<i>Cephalaria syriaca</i> L.) bitki yapısı (Göktürk, 2014).....	5
Şekil 3. 1. Pelemir (<i>C. syriaca</i>) genotiplerinin toplandığı iller.....	18
Şekil 3. 2. Analizlerde kullanılan PCR ve UV transilluminör cihazları	24
Şekil 3. 3. Çalışmaya ait santrifüj cihazları	24
Şekil 3. 4. Çalışmaya ait manyetik karıştırıcı, vortex ve hassas terazi cihazları	25
Şekil 3. 5. Çalışmaya ait elektroforez sistemi ve otomatik pipet seti	25
Şekil 4.1. SCoT analizinden alınan 44 genotipi temsil eden bant görüntüsü ...	30
Şekil 4.2. SCoT primerinden SCoT16'ya ait 44 pelemir genotipini temsil eden bant görüntüsünün var (1) ve yok (0) analizi.....	34
Şekil 4. 3. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte 12 SCoT primeri ile oluşan STRUCTURE kümeleme analizi	33
Şekil 4. 4. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte 12 SCoT primeri ile oluşan STRUCTURE kümeleme analizi ΔK grafiği	34
Şekil 4. 5. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte SCoT markörleri ile yapılan çalışmanın soyağacı görüntüsü.....	35
Şekil 4. 6. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşidin genetik mesafelerinin temel koordinat analizi (PCoA).....	36

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Pelemire (<i>C. syriaca</i>) ait genotip ve çeşitlerin pasaport bilgileri....	18
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan SCoT primerlerine ait baz dizilimleri ve bağlanma sıcaklıkları.....	22
Tablo 3.3. PCR’da kullanılan kimyasal değerleri	23
Tablo 3.4. SCoT-PCR kademeleri.....	23
Tablo 4.1. Nanodrop ile elde edilen saflık ve konsantrasyon değerleri	28
Tablo 4.2. SCoT yöntemi için bazı parametreler	32
Tablo 4.3. SCoT yönteminde genetik çeşitlilik değerlendirmesi için bazı parametreler.....	32



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AMOVA	: Analysis of Molecular Variance / Moleküler Varyans Analizi
BAİBÜ	: Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
CBDP	: CAAT Box-Derived Polymorphism
CDDP	: Conserved DNA-Derived Polymorphism
CTAB	: Cetyl Trimethylammonium Bromide
ddH₂O	: Ultra Saf Su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleosid Trifosfat
g	: Gram
GBS	: Genotyping by Sequencing / Dizileme ile Genotipleme
GM	: Genetik Mesafe
H	: Genetik çeşitlilik
HT	: Toplam genetik çeşitlilik
I	: Shannon indeksi
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat / Basit Tekrarlı Diziler Arası
K	: Küme
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NE	: Etkili alel sayısı
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
PBS	: Polimorfik bant sayısı
PCR	: Polymerase Chain Reaction / Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	: Polimorfizm bilgi içeriği
PİV	: Populasyonlar içi varyasyon
PO	: Polimorfizm oranı
QTL	: Quantitative Trait Locus
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SBS	: Skorlanabilir Bant Sayısı
SBS	: Skorlanan bant sayısı
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions
SCoT	: Start Codon Targeted / Hedeflenmiş Başlangıç Kodonu
SNP	: Single-Nucleotide Polymorphism / Tek Nükleotid Polimorfizmi
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
TAE	: Tris base/acetic acid/EDTA.
TPBS	: Toplam Polimorfik Bant Sayısı
TRAP	: Target Region Amplified Polymorphism
TSBS	: Toplam Skorlanabilir Bant Sayısı
TV	: Tahmini Varyans
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean
UV	: Ultraviyole
ΔK	: Delta K
μl	: Mikrolitre
$^{\circ}C$: Santigrat derece
%	: Yüzde

TEŞEKKÜR

Başta öğrencisi olmaktan her zaman onur duyduğum, karakterini ve problemler karşısındaki duruşunu her zaman örnek aldığım, lisans hayatımdan bu yana yoluma ışık tutan, her koşulda göstermiş olduğu sabrı, teşvikleri ve maddi manevi destekleri için çok kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Yusuf ARSLAN' a,

Çalışmama sağladığı katkı ve desteklerinden dolayı, bilgi ve tecrübesine her zaman ihtiyaç duyduğum ikinci tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Faheem Shahzad BALOCH'a,

Lisans ve yüksek lisans hayatım boyunca hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, bu çalışma sürecinde de her türlü yoğunluklarında sağladıkları tüm katkıları, anlayışları, özverileri ve sabırları için kıymetli hocalarım Doç. Dr. Abdurrahim YILMAZ ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Zahit YEKEN'e,

Nanodrop çalışmalarımıdaki desteklerinden dolayı değerli hocam Prof. Dr. Göksel ÖZER'e ve laboratuvar ekibine, tez jüri üyemde yer alan ve veri analizi çalışmalarımında desteklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Muhammad Azhar NADEEM'e, özellikle laboratuvar çalışmalarımında olmak üzere tüm yoğunluğunun arasında her türlü sorunumda sabır ve anlayışla bana fazlasıyla destek olan değerli hocam Arş. Gör. Orkun EMİRALIOĞLU'na, istatistik çalışmalarımında sabrı, hoşgörüsü ve destekleri çok kıymetli olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Emrah GÜLER'e ve skorlama çalışmalarımında büyük bir özveriyle bana destek olan değerli arkadaşım Nazlı CAN'a,

Bu tez çalışmamı 2022.10.07.1537 no'lu proje kapsamında maddi olarak desteleyen BAİBÜ BAP birimine ve yine 120R015 no'lu proje kapsamında maddi olarak destek veren TÜBİTAK'a,

Tüm hayatım boyunca arkamda olan hiçbir zaman yalnız hissettirmeyen kıymetli aileme, biricik ablam Goncagül İŞLER ve biricik annem Birsen DÜNDAR İŞLER'e,

Teşekkür ederim...

Berfin İŞLER

1. GİRİŞ

Ülkemiz, yıllık bazda ihtiyaç duyduğu yemeklik yağ ve yağlı tohum küspesini, ürettiği ürünlerden karşılayamamakta ve oluşan ürün açığının kapanması için yapılmakta olan yağlı tohum, yağlı tohum küspesi ve ham yağ dış alımı, neredeyse üretilen ürün miktarı kadar yapılmaktadır (Arslan vd., 2014). 2022 yılı dış ticaret verilerine göre, bitkisel yağ sektöründe toplam ihracatın 2.358.716.852 dolar, toplam ithalatın 4.015.766.253 dolar olduğu ve oluşan dış ticaret açığının 1.657.049.401 dolar olduğu; hayvan yemi sektörü için soya fasulyesi ihracatının 73.073.327 dolar, ithalatın 2.008.291.354 dolar olduğu ve oluşan dış ticaret açığının 1.935.218.027 dolar olduğu belirtilmektedir (TGDF, 2023). Ayrıca, Avrupa Birliği (AB) Komisyonunun EC2003/30 sayılı kararına göre birliğe üye ülkelerde 2020 yılına kadar ulaşımda kullanılan akaryakıtın en az %5.75'inin bitkisel kaynaklardan elde edilmesi gerekliliği belirtilmektedir (Öğüt vd., 2014). Ülkemizde, 16/6/2017 tarihli ve 30098 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Motorin Türlerine Biyodizel Harmanlanması Hakkında Tebliğ uyarınca, biyodizel katılım oranı minimum %0.5 olarak zorunlu hale gelmiştir. Buna ilaveten yine aynı tebliğde, bu biyodizelin yerli kaynaklardan üretilme zorunluluğu getirilmiştir. Ülkemiz için bu oranın düşük olmasının nedeninin yemeklik yağ açığımızdan kaynaklandığı belirtilmektedir. 2018 yılı itibariyle ülkemiz motorin tüketim miktarı 25 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Bu miktardaki motorin için ihtiyaç duyulan biyodizel miktarının yaklaşık olarak 125 bin ton olduğu bildirilmektedir (Öğüt vd., 2014). Zorunlu olan bu miktardaki biyodizelin yerli tarım ürünlerinden veya atık yağlardan üretme zorunluluğu da getirilmiştir. Avrupa Birliği uyum şartlarını yerine getirme zorunluluğu ortaya çıktığında bu miktar yaklaşık 1.4 milyon olarak belirtilmektedir. Bu durum her yıl ithal edilen 1.5 milyon ton düzeyindeki bitkisel yağ ithalatını ikiye katlamasına neden olacağı bildirilmektedir. Bu durumda, mevcut ürünlerin ekim alanlarının ve üretim miktarlarının artırılmasının yanı sıra, farklı bölgelerimiz için uygun enerji bitkilerinin belirlenmesine yönelik araştırma projelerine ihtiyaç duyulmaktadır (PETDER, 2023).

Ülkemizde gerçekleştirilen ulusal toplantılarda; biyodizel kullanımına yönelik çok sayıda alınmış karar bulunmaktadır. Bunlardan bazıları;

- Ulusal Bilim ve Teknoloji Politikaları 2003 – 2023 Strateji Belgesi. (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu ,2019).
- Milli Enerji ve Maden Politikası (Siyaset, Ekonomi ve Toplum Araştırmaları Vakfı, 2019),
- Ulusal Enerji Verimliliği Eylem Planı (Resmi Gazete,2019),
- Ulusal Atık Yönetimi ve Eylem Planı 2016-2023 (Türkiye Çevre ve Şehircilik Bakanlığı,2019),
- Ulusal İklim Değişikliği Strateji Belgesi (Türkiye Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2019),
- Türkiye'nin İklim Değişikliği Uyum Stratejisi ve Eylem Planı (Türkiye Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2019),
- Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Düşük Karbonlu Kalkınma için Çözümsel Tabanlı Strateji ve Eylem Geliştirilmesi Teknik Destek Projesi (Türkiye Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2019) olarak sayılabilir.

Hâlihazırda biyodizel üretimi yapan 6 tesisin 330.000 ton/tohum kapasiteyle çalıştığı bilinmektedir (PETDER, 2023). Bu tesisler ağırlıklı olarak kolza, pamuk, ketencik ve geri dönüşüm yağını işlemektedirler. Biyodizel hammaddesinin yerli kaynaklardan elde edilme zorunluluğundan dolayı firmalar özellikle Trakya bölgesinde ve Konya civarında üreticiye sözleşmeli olarak kolza üretimi yaptırmaktadırlar. Trakya bölgesi yıllık 600 mm yağış aldığından ve kışları diğer bölgelere kıyasla çok sert geçmediğinden dolayı kolza için çok ideal bölge olmuş ve her geçen gün kolzanın ekim alanının arttığı görülmektedir (TÜİK, 2023). Trakya bölgesi aynı zamanda ülkemizin yemeklik yağ ihtiyacını karşılamada önemli bir rol üstlenen ayçiçeği bitkisinin de en fazla ekildiği bölge olarak bilinmektedir. Kolza bitkisi ekim alanı, ayçiçeği ekim alanının aleyhine olarak artmaktadır. Ketencik tohum ithalatı, son zamanlarda gerek gümrük vergilerinin artması gerekse yerli kaynak zorunluluğu nedeniyle durmuştur. Konya civarında ise, kolza ekiminden sonra çıkış suyu verilmesi gerektiğinden dolayı da yer altı sularına baskı artmaktadır. Bu durum, zaten var olan yer altı su seviyesinin daha derinlere inmesi sonucunu doğurmaktadır (Sezgin vd., 2017). Kolza kışları çok sert geçmeyen bölgelerimizde rozet formunda girmek şartıyla kışı zarar görmeden atlatabilmektedir. Bitkilerin kışa rozet formunda girebilmelerini sağlayabilmek için ya sonbahar erken dönem yağışlarının olması ya da ekim sonrası sulanması

gerekmektedir. Kolzanın kışa rozet formunda girmesi zorunluluğu su kısıtının olduğu bölgelerimizde bu bitkinin ekimini sınırlamaktadır. Pelemir bitkisiyle Ankara, Konya ve Kırşehir ekolojik şartlarında gerçekleştirilen ekim zamanı, bitki sıklığı ve gübre dozu, ön verim denemesi çalışmalarında, ekimler sonbaharda yapılmış ve devamında çıkış suyu verilmediği halde sonbahar ilk yağmurlarıyla çıkışını ve rozet dönemini başarıyla tamamladığı bildirilmektedir (Arslan vd., 2014; Sezgin vd., 2017). 2012 deneme yılında, sıcaklık -20 °C'ye kadar düşmesine rağmen bitkilerin hiçbir şekilde zarar görmediği belirtilmektedir (Katar vd., 2011).

Ülkemiz yemeklik yağ, yağlı tohum küspesi ve biyodizel hammaddesi ihtiyacını karşılamanın diğer bir yolunun yağ bitkileri ekim alanını Trakya bölgesinin yanı sıra İç Anadolu, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde de yaygınlaştırmaktan geçtiği, bunun için de alternatif yağ bitkilerinin iyileştirilmesi ve yaygınlaştırılması gerektiği bildirilmiştir (Arslan vd., 2014). Ülkemizin kıyı bölgelerinde gerek yeterli yağışın olması gerekse yeterli sulama imkanının daha fazla olması nedeniyle ekonomik getirisi daha yüksek olan bitkiler yetiştirilmektedir. Bundan dolayı bu bölgelerde yağ bitkilerinin üretim alanlarının artırılma imkânı düşük görülmektedir. Buna karşılık, ülkemiz tarım alanlarının büyük bir kısmını oluşturan İç, Orta ve Doğu Anadolu Bölgelerimizde iklim kısıtları nedeniyle ayçiçeği, kolza ve soya gibi çevresel istekleri yüksek olan bitkilerin yetiştirilebileceği alanların sınırlı olduğu bildirilmektedir (Katar vd., 2012).

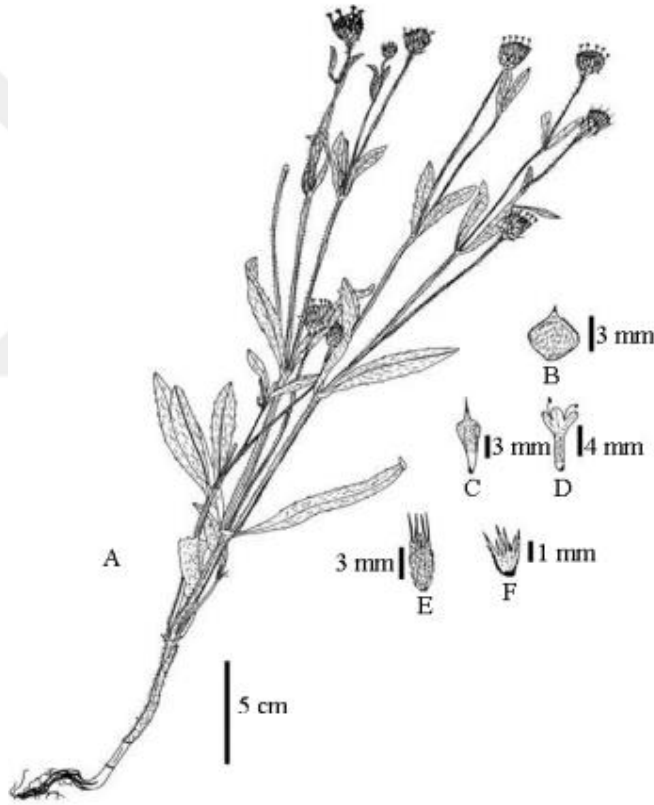
Dünyada yaygın bir şekilde yayılış göstermekte olan *Dipsacaceae* familyasından *Cephalaria syriaca* bitkisi tohumlarının alternatif bitkisel yağlı tohum kaynağı olabileceği bildirilmektedir (Duman, 2023). Yazıcıoğlu vd.'nin 1978 yılında yağ bitkisi olarak dikkat çektiği pelemir bitkisi ancak 2017 yılında milli çeşit listesinde yerini alabilmiştir. Bu listede biri yağlık, diğeri un katkı maddesi olmak üzere iki adet (Karahana ve Ziya) pelemir çeşidi bulunmaktadır (Türkiye Tarım ve Orman Bakanlığı Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Müdürlüğü, Milli Çeşit Listesi, 2017). Bitkiyle ilgili son yıllarda çalışmalar yapıyor olsa da ülkemiz doğal florasında yaygın olarak bulunan bitkinin tespit edilen tüm yayılış alanlarından toplanarak tarımsal açıdan değerlendirilmesi ile ilgili detaylı bir genetik kaynak toplaması ve tarımsal özelliklerine ilişkin karakterizasyon çalışması

yapılmamıştır. Tescil ettirilen KARAHAN çeşidiyle ilgili makalelerde çeşidin 463 kg/da verim verebildiği ve %25 dolayında yağ oranına sahip olduğu bildirilmektedir (Arslan vd., 2014). Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünde pelemirle ilgili yapılan ön çalışmalarda pelemirin erken ilkbaharda hızlı geliştiği için yabancı otları bastırdığı yabancı ot mücadelesine gerek kalmadan kültürünün yapılabildiği bildirilmiştir. Yine aynı enstitüde tescil edilen KARAHAN pelemir çeşidi tohumluk üretimi, yeni bir alet makineye ihtiyaç duymadan buğday üretiminde kullanılan her türlü tarımsal alet ve ekipmanla yapılabildiği de belirtilmiştir. Bu durum pelemir üretiminin yaygınlaşması durumunda çiftçilerin yeni bir alet makine temin etmesi ihtiyacını da doğurmayacağını göstermektedir.

Cephalaria adının eski Yunancada kephale (kafa) kelimesinden geldiği, *Cephalaria* L. cinsine mensup türlerin çiçeklerinin, çiçek yuvası üzerinde bir kafa görüntüsünde yoğun olarak düzenlenmiş çiçeklerden oluştuğu bildirilmektedir (Göktürk ve Sümbül, 2014). *Cephalaria* L. cinsi yoğun olarak 2 bölge üzerinde dağılım göstermekte olduğu ve ana dağıtım orijinlerinin Balkan Yarımadası, Güney Afrika ve Akdeniz bölgesi Kafkasya, Güney Ukrayna, İran, Batı Çin ve Orta Doğu olduğu bildirilmektedir (Szabó, 1940). *Cephalaria* L. cinsinde yapılmış olan revizyon sonucunda türe ait sayı 94 olarak belirtilmiştir. Matthews (1972)'in yürüttüğü çalışma sonucunda *Cephalaria* L. cinsine ait tür sayısı Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları'nda 29 olarak bildirilmiş fakat yakın geçmişte, Türkiye kapsamında 11 yeni tür ve 1 yeni alttür tanımlaması yapılmıştır (Davis vd., 1988; Sümbül, 1991; Göktürk ve Sümbül, 1997; Göktürk vd., 2003; Göktürk ve Sümbül, 2003; Kuş ve Göktürk, 2005; Aksoy vd., 2007; Parolly ve Eren, 2007). Güncel veri olarak Göktürk ve Sümbül (2014)'ün yürütmüş oldukları *Cephalaria* L. cinsi revizyon çalışmasında Türkiye'de takson sayısı 41 (39 tür, 1 alttür ve 1 varyete) olarak bildirilmiş ve bu sayının 25'inin endemik (endemizm oranı %60.9) sınıfta olduğu değerlendirilmiştir (Göktürk vd., 2012).

Pelemir (*Cephalaria cyriaca*) bitkisinin ait olduğu *Cephalaria* L. cinsinin dünyada 94 türü olduğu, ülkemizde ise 39 türü olduğu bildirilmektedir (Göktürk ve Sümbül, 2014). Pelemir çok dallanan bir bitkidir (Şekil 1.1) (Sıralı ve Deveci, 2002). Ülkemizde 1970'li yıllara kadar, bitkinin tohumlarındaki yağ oranının %21-26 düzeyinde olması pelemirin yağ bitkisi olarak kullanılmasına neden olmuştur

(Baytop, 1999). Pelemir yağı yeşilimsi sarı renkte olup, hoş kokuludur. Bu yağ doğrudan yemeklik olarak kullanılabilirdiği gibi diğer yağlarla karıştırılarak da kullanılmıştır. Konuyla ilgili yapılan çalışma yağının biyodizel kalitesinin istenen standartlarda olduğunu göstermiştir (Öğüt vd., 2014). Küspesi hayvan beslenmesinde kullanılabilir bir kesif yem kaynağı olarak gösterilmektedir. Pelemir tohumlarından elde edilen un ve yağ düşük düzeylerde (%0.5-3.0) buğday ununa karıştırıldığında ekmeğin hacmini artırdığı, yumuşaklık ve duysal özelliklerinde artışlar sağladığı ve ekmeğin bayatlamasını geciktirdiği bildirilmektedir (Karaoğlu, 2006 ve 2011; Başar vd., 2016).



A- genel bitki görünümü, B- involukal brakte, C- hazne braktesi, D- taç kısmı, E- sarılmış tohum kısmı, F- kaliks

Şekil 1. 1. Pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) bitki yapısı (Göktürk, 2014)

Cephalaria syriaca 'nın, otsu yapıda dik gelişim gösteren tek yıllık bitki olduğu bildirilmektedir. Gövde uzunluğu optimum çevre şartlarına paralel olarak 183.2 cm'yi bulabilmektedir (Arslan vd., 2014). Kazık kök sistemi ile bitkimizin

kök aksamının 60-120 cm inebildiği belirtilmiştir. Toprak üstü aksamda 10 cm itibariyle dallanma gösteren tipler olduğu gibi daha yüksek seviyelerden dallanan tipler olduğu da bildirilmiştir. Dalların meyve ile sonlanmasından dolayı tohum verimi ve dal sayısının doğru orantılı seyrettiği belirtilmektedir. Ayrıca bitki çiçeklerinin bal arıları tarafından cezbedici olduğu bildirilmektedir (Sıralı ve Deveci, 2002). *Cephalaria syriaca* türünün, tozlayıcı yoğunluğu doğrultusunda yabancı dölleme gösterdiği gibi yüksek oranda kendine dölleme gösterdiği bildirilmektedir. Tohumlarının bünyesinde bulundurmakta olduğu ham yağ yüzdesi %21-26, protein yüzdesi %14-20 olarak bildirilmiştir (Çağlar, 1968; Baytop, 1999; Arslan vd., 2014; Sezgin vd., 2017; Kavak ve Baştürk, 2020). Ancak yağın içeriğinde insan sağlığı açısından zararlı olarak sınıflandırılan epoksi asit bulunduğu (%7-8) belirtilmektedir (Yazıcıoğlu vd., 1978). Yağ asitleri kompozisyonu %30.6 linoleik asit, %30.0 oleik asit, %15.5 miristik asit ve %7.7 pentadesanoik asit olarak belirlenmiştir (Subaşı vd., 2021). Günümüzde, bünyesinde bulundurduğu yağın biyodizel hammaddesi olarak değerlendirilebileceği belirtilmekte ve biyodizel üreticilerince ilgi ile takip edilmektedir (Arslan vd., 2022). Pelemirin yüksek adaptasyon yeteneğinden dolayı kuru tarım yapılan alanlar için münavebeye alınabilecek yeterlilikte bir bitki olduğu ve ayrıca nadas alanlarının değerlendirilmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünün İkizce Araştırma ve Üretme Çiftliğinde yürütülmüş olan çalışmalar neticesinde 2012 yılı kış mevsiminde bitkinin kar örtüsü olmaksızın -20 °C' de zarar görmediği tespit edilmiştir (Arslan vd., 2022). Bu seviyelerdeki sıcaklık değerleri, soğuğa tolerans açısından değerlendirildiğinde son derece önem arz etmektedir. Soğuğa oldukça dayanıklı olan pelemir bitkisinin özel bir iklim isteği bulunmamaktadır. Killi ve tınlı topraklarda çok iyi yetişmektedir. Ayrıca, toprak derinliği fazla olmayan eğimli ve erozyona maruz kalan marjinal alanlarda bile yetiştirilebildiği, tuza toleransının olduğu ve bu topraklar için tatmin edici düzeyde verim alınabildiği bildirilmektedir (Kaya vd., 2009).

Pelemir bitkisinin Ankara ekolojik koşullarında en uygun ekim zamanını belirlemek için yapılan çalışmadan 193.96 kg/da, ekim sıklığını belirleme çalışmasından 129.51 kg/da ve en uygun gübre dozunu belirleme çalışmasından ise 463 kg/da verim alındığı ve yağ oranlarının da yine aynı çalışmalarda sırasıyla %

24.57, %22.48 ve %21.85 olarak tespit edildiği, dekara yağ veriminin ise sırasıyla 47.66 kg/da, 24.87 kg/da ve 101.17 kg/da olarak tespit edildiği bildirilmektedir (Katar vd., 2011; Katar vd., 2012; Arslan vd., 2012).

Bilindiği gibi ıslah çalışmaları ile bitkilerin verim ve kalite özelliklerinde ciddi artışlar ve iyileştirmeler sağlanabilmektedir. Kolza bitkisi buna güzel bir örnektir. M.Ö. 2000’li yıllardan beri bilinen bitki, Avrupa’da 13. Yüzyıldan beri üretilmeye başlanmış, ülkemizde ise 1960’lı yıllarda üretime alınmış ancak yüksek erüsik asit ve glikozanat yüzünden üretimden geri çekilmiştir. Bitkinin 1943’lerdeki verimi 120 kg/da civarında ve yağındaki erüsik asit oranı ise %23-55 arasında yer almış fakat daha sonraki yıllarda yapılan seleksiyon ve modern ıslah çalışmaları ile bu oran önceleri %5’lere, sonrasında %2’lere ve nihayetinde iz miktara kadar indirilmiştir. Aynı şekilde küspesindeki glikozanat miktarı da iz miktara kadar indirilmiş ve bu yeni tipin adına da İngilizce CANOLA adı verilmiştir. Yine aynı şekilde dünya verim ortalaması da 250 kg/da’lara kadar çıkmıştır. Islah çalışmaları ile pelemir bitkisinde de verim ve kalite özelliklerinde iyileşmelerin olabileceği öngörülmektedir. Bunun yanı sıra, yağlı tohumlu bitkilerde aynı tür içinde, aynı çeşit içinde bile gerek genetik yapının etkisi ile gerekse çevre şartlarının etkisi ile az veya çok oranlarda yağ oranında ve yağ asidi kompozisyonunda farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde bu çalışma kapsamında ülkemiz doğal florasında bulunan genotiplerin taranması ve ümitvar genotiplerin olup olmadığının değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Genetik çeşitlilik arttıkça istenen yağ oranlarına ve bileşenlerine sahip genotipleri bulma ihtimali de mümkündür (Arslan vd., 2023).

Biyoteknoloji, genetik mühendisliği ile moleküler markörlerin geliştirilmesi ve ıslah çalışmalarında kullanılması olmak üzere ıslah çalışmalarına iki şekilde katkı sağlamaktadır. Moleküler markörler, seleksiyon çalışmalarında büyük oranda kolaylık sağlayarak, ıslah çalışmalarında genotipler arası genetik varyasyon ve orijini ile ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır (Baloch vd., 2017; Ali vd., 2019). Markörler, kullanımına göre bitkilerin morfolojisi, biyokimyasal yapısı ve DNA yapısı olmak üzere 3 ana kategoriye ayrılmakta ve populasyonlar arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılmaktadırlar (Nadeem vd., 2018; Baloch vd.,

2010; Yaman vd., 2014). Son yıllarda çok sayıda DNA bazlı genetik belirteçler geliştirilmiştir.

Başlangıç kodonu hedefli polimorfizm (Start Codon Target Polymorphism) belirteç yöntemi, herhangi bir genin ATG transkripsiyon başlangıç noktasının kısa korunmuş bölgesine dayanmakta olan oldukça hassas ve tekrarlanabilir markör sistemidir (Pakseresht vd., 2013; Mahjbi vd., 2015). Hedef genleri çevreleyen fonksiyonel gen veya bölgeler, kendilerine karşılık gelmekte olan özelliklerle bağlantılı olup, sıra bilgisi gerektirmemektedirler (Collard 2008; Pakseresht vd., 2013; Mahjbi vd., 2015). Bunların yanı sıra, SCoT primerleri yüksek çözme gücüne (RP) sahip olduğundan RAPD ve benzeri yaygın markör sistemlerine göre daha yüksek polimorfizm değerleri göstermektedirler. SCoT primer tekniği, basitliği, gen sıralarını hedefleme yeteneği ve baskın bir belirteç sistemi olduğundan dolayı tercih edilmektedir (Xia vd., 2016).

Bu çalışmada SCoT markörleri, pelemir bitkisinde genetik çeşitlilik araştırması için kullanılmıştır. Moleküler düzeyde ülkemizde daha önce pelemir genotiplerinde herhangi bir çalışma yapılmamış olup, yalnızca morfolojik çalışmalar yapılmıştır. Yürütülen çalışma, ülkemiz yerel pelemir genotiplerinin SCoT markör yöntemiyle karakterizasyonuna dair yapılan ilk ve geniş kapsamlı bir çalışma olması sebebiyle özgün değer taşımaktadır. Sonuçlar neticesinde pelemir bitkisinde SCoT primerlerinin kullanılmasına ilişkin bilgi elde edilecektir. İleride bu markör sisteminin pelemir bitkisi ile ilişkilendirme haritalamasında kullanılacak olması oldukça önem arz etmektedir. Ülkemizin mevcut pelemir gen kaynakları ile genetik akrabalık dereceleri belirlenecek, birbirinden farklı olan ebeveynler tespit edilerek ve ıslah programlarında (melezleme vb.) kullanılarak ayrıca QTL haritalamaları oluşturulabilecektir. Çalışma kapsamında değerlendirilen genotiplerin genetik çeşitliliği ve özellikleri belirlenerek, ileride yapılacak olan ıslah programlarında pelemir ıslahçılarına temel oluşturacak bilgiler sunulmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Collard vd. (2009), 10 farklı pirinç genotipinde, polimorfizm seviyesini test etmek amacıyla bitkilerde gen hedefli belirteçler üretmek için basit, yeni bir DNA markör yöntemi olan SCoT primerleri ile yaptıkları çalışmada, 36 primer ile analiz yapmalarına rağmen, çalışmada bildirilen primer dizilerindeki küçük değişikliklerle veya ATG başlangıç kodonunu çevreleyen korunmuş bölgenin farklı bölümleri hedeflenerek daha fazla ek primer tasarlanabileceğini, ATG başlangıç kodonunu çevreleyen bölgenin tüm bitki türlerinde yüksek oranda korunmasından dolayı, SCoT yönteminin, deneysel boyutta doğrulanmamış olmasına karşın, farklı bitki çeşitlerinde DNA belirteçleri oluşturmak adına yararlı olacağını ön gördüklerini ve primer tasarımı ile bitki gen bölgelerini hedefleyen yeni bir DNA markör tekniği geliştirildiğini, bu yöntemin agaroz bazlı olması sebebiyle basit ve kullanımının nispeten ucuz olduğunu, bu markör yönteminin bitki genetik çalışmalarında farklı uygulamalar için RAPD ve ISSR yöntemlerine alternatif bir yöntem sağlayacağını bildirmişlerdir.

Luo vd. (2010), 50 adet mango genotipinde, mango populasyonlarındaki genetik çeşitlilik ve türler arası ilişkileri değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında 33 SCoT markörü ile 273 bant elde ederek, 273 banttan 208 bantın %76.19 düzeyinde polimorfik bulunduğunu ve her primerden ortalama 8.27 bant tespit edildiğini belirterek SCoT markörleri ile mango populasyonları arasında yüksek düzeyde polimorfizm elde edilebileceği, UPGMA kullanarak oluşturulan dendrogramda populasyonların tamamının temelde altı kümede incelendiğini belirtmişlerdir. Sonuçlar neticesinde çalışmanın, germplazmanın yönetimi ve halihazırdaki ıslah tekniklerini geliştirmede fayda sağlayacağı ve SCoT markör çalışmasının, mango kültür bitkilerinde tanımlama yapılması ve genetik varyasyon analizi için fayda sağlayacağını bildirmişlerdir.

Bhattacharyya vd. (2013), Hindistan kökenli 60 yabani orkide (*Dendrobium nobile* L.) genotipinde genetik çeşitliliği belirlemek için yürüttükleri çalışmada 16 SCoT markörü ile yabani orkide genotiplerinde %92.62 oranında polimorfizm bulduklarını, yapılan kümeleme analizleriyle SCoT markörlerinin orkide türlerinin genetik çeşitliliği hakkında etkin olduğunu ve yürütülen çalışmanın araştırmacılar için bir başlangıç olduğunu bildirmektedirler.

Rathore vd. (2014), önemli bir C4 bitkisi olan ve mikro çoğaltım ile çoğaltılmış *Cleome gynandra* bitkisinde *invitro* çoğaltımın genetik stabilitesi üzerinde çalışma yapmak için rastgele 7 bitki seçerek, 15 SCoT markörü ile yürüttükleri çalışmada rejenere edilmiş bitkilerde ve ana bitkide polimorfizm tespit edilmediğini ve *in vitro* koşullarda yetiştirilmiş olan bitkilerde genetik çeşitlilik bulunmadığını bildirmektedirler.

Zeng vd. (2014), pas hastalığına yüksek toleranslı 45 *Dactylis glomerata* bitkisinde genetik varyasyon üzerine inceleme yapmak için 22 SCoT primeri kullanarak yürüttükleri çalışmada primer başına ortalama 12.59 bantla toplamda 277 skorlanabilir bant elde ettiklerini ve bu bantlardan 249'unun polimorfik bulunarak %89.89 düzeyinde polimorfizm elde edildiğini, UPGMA kümeleme algoritmasında 5 grup oluştuğunu ve SCoT markör yönteminin geleneksel ve tesadüfi amplikon oluşturan AFLP'ler, RAPD'ler ve SSR'ler yerine ıslah çalışmalarını bilgilendirmek amacıyla daha faydalı olduğu düşünülen “moleküler markör genler” şeklinde kabul edilebileceğini belirtmektedirler.

Hacıbarat vd. (2015), İran'ın farklı coğrafi bölgelerinden 19'u yerel ve 29'u ileri çeşit olmak üzere toplamda 48 nohut çeşidinde, genetik çeşitliliği görmek için SSR, SCoT ve CDDP moleküler markörleri ile yaptıkları çalışmada, farklı araştırmacılar tarafından morfolojik ve SSR belirteçleri kullanarak yapılan önceki çalışmalara nazaran farklı ve yeni markörlerin (SCoT ve CDDP) kullanılmasından kaynaklandığı öngörülerek genetik çeşitliliğin çok daha yüksek bulunduğunu ayrıca SCoT ve CDDP markörlerinin genomun fonksiyonel bölümünden üretildiğinden dolayı bu markörler ile yürütülen çalışmalarda genetik çeşitlilik, genotip tanımlaması, bağlantı haritalarının oluşturulması ve QTL haritalaması gibi iyileştirme çalışmalarında daha faydalı olacağını belirtmektedirler.

Deng vd. (2015), Çin orijinli yerel ve doğal türlerin genetik varyasyonu ve akrabalık derecelerini tespit edebilmek amacıyla *Diospyros kaki* Thunb, *D. oleifera* Cheng, *D. kaki* var. *silverstris* Mak ve *D. lotus* Linn türlerine ait 95 *Diospyros* genotipinde yürüttükleri çalışmada, SCoT primerleri ile ayırt edilebildiğini ve kümeleme analizi yöntemiyle bu genotiplerin üç grupta değerlendirildiğini, bunun yanında çalışmanın *Diospyros* genotiplerinde geniş bir genetik geçmiş ve zengin varyasyona sahip olduğunu fakat bazı türlerin neslinin tükenme tehdidi bulunduğunu, bunun önüne geçebilmek adına ıslah faaliyetlerinin hızlandırılması

için SCoT primerlerinin farklı yerel aksesyonlar ya da doğal popülasyonlar arası genetik varyasyonun değerlendirilmesinde yardımcı olabildiğini bildirmektedirler.

Yadav ve Malik (2016), Kuzey Hindistan kökenli değişik bölgelerden 14 *Foeniculum vulgare* genotipinde genetik varyasyon ve akrabalık derecelerini tespit edebilmek amacıyla 35 SCoT primeri ile yürüttükleri çalışmayla 256 skorlanabilir bant elde edildiğini, 240 bantın ise polimorfik bulunduğunu ve primer başına 7.0 bant elde edilerek polimorfizm oranının %85.69 düzeyinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Filogenetik ilişkiyi belirlemek amacıyla yürütülen çalışma kapsamında SCoT analiziyle oluşturulan dendrogramda iki alt kümede değerlendirilen 14 genotip, SCoT markörlerinin *Foeniculum vulgare* bitkisinde genetik varyasyonun moleküler karakterizasyonu açısından oldukça önem arz ettiği sonucunu bildirmişlerdir.

Bhawna vd. (2017), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanmış olan 39 su kabağı genotipinde, gen akışı ve popülasyon yapısını değerlendirmek için 20 SCoT primeri kullanarak yapmış oldukları çalışmada, %82.61 oranında polimorfik olan 161 amplikon üretildiği, veri analizleri ile çeşitliliğin popülasyon içinde ve popülasyonlar arasında dağılımını inceleyerek coğrafi bölgelere dayalı küçük bölgesel bir kümeleme önermiş ve SCoT primerlerinin, varyasyon analizi çalışmalarında araştırmacılar için gen hedeflemede ümitvar belirteçler olduğunu bildirmişlerdir.

Gölkar ve Mokhtari (2018), Dünyanın farklı bölgelerinden 100 aspir genotipinde, genetik çeşitlilik değerlendirmesi yapmak için 12 SRAP ve 11 SCoT markörü kullanarak yaptıkları çalışmada, hem SRAP hem de SCoT markörlerinin aspir genotiplerinde genetik varyasyon tanımlanmasında yüksek etkinlik gösterdiği, genetik varyansın asıl olarak popülasyonlar içinde bulunduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, SCoT yönteminden gelen polimorfik bantların işlevsel bölgeden üretilip üretilmediği; dizileme gibi tekniklerle daha detaylı bir değerlendirme gerektiği ve ilerideki çalışmalarda bu tanısal işaretleyicilerin SCAR'lara dönüştürülmesi gerektiği önerilmektedir.

Etmnan vd. (2018), 9 yabancı *Salvia* türünde yapmış oldukları çalışmada, genetik varyasyon analizi yapmak için, seçilmiş 21 ISSR ve 20 SCoT markörü ile sırasıyla tamamı polimorfik olan 350 ve 329 bant elde ederek, polimorfizm içeriği (PIC) 0.38 ve 0.40, ortalama bant bilgi düzeyi 16.67 ve 16.45, çözme gücü (Rp) 9.75 ve 12.52 olarak bildirilmektedir. Çalışmada korelasyon kat sayısı 0.83 şeklinde

belirtilerek benzer bir polimorfizm dağılımı elde edildiği, her iki yöntemin de genetik varyasyon çalışmalarında etkili olmasına rağmen, *Salvia* çeşitlerinde genetik varyasyon ve ilişkilerin analizi için SCoT belirteçleri güvenilir, faydalı bir yöntem olarak belirtilmektedir.

Feng vd. (2018), Çin şifalı bitkileri içerisinde önem arz eden ve süs bitkilerine olan benzerlikleri sebebiyle karıştırılmaya müsait, bu sebeple sıklıkla kullanılmakta olduğundan korunması güçleşen *Physalis* türünün 20 genotipinde karakterizasyon çalışması yapmak amacıyla 36 SCoT primeri ile yaptıkları çalışmada, geliştirilmiş olan primer çiftleri, özel ampikonun yalnızca hedef *Physalis* türlerinde bulunduğu ve hedef dışı *Physalis* türlerinde gözlenmediğini, sonuç olarak oluşan özel SCAR markörlerinin *Physalis* tür taramasında net ve güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Kobeissi vd. (2018), 32 Krizantem (*Chrysanthemum morifolium*) çeşidinde genetik varyasyonu tespit edebilmek için 30 SSR ve 8 SCoT primeri ile yürüttükleri çalışmada, benzerlik matrislerinde pozitif korelasyon tespit edilen SSR ve SCoT primerlerinde PIC düzeyi 0.37 ile 0.34 olurken, yapılan kümeleme analizi ile genotiplerin dört grupta incelendiğini ve krizantem genotip parmak izinde SSR ve SCoT primer faaliyetlerinin kısmen aynı olup genotip korunması ile *C. morifolium* kültüründe genetik altyapının artırılması amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Agarwal vd. (2019), 29 gül materyalinde genetik çeşitlilik tespiti ve karakterizasyon yapmak amacıyla, 36 SCoT markörü kullanarak yaptıkları çalışmada, 32 markörde 299 polimorfik bant bulunduğunu, 150 bp ve 1.2 kb aralığında ampikon uzunluklarının tespit edildiğini, gül popülasyonunda 29 farklı gül türünden oluşturulan dendrogramda 2 ana grup elde edildiği bildirilmiştir. 29 farklı Rosa germplazmasında genetik polimorfizm hakkındaki ilk rapor olan bu çalışmada yüksek polimorfizm, yüksek tekrarlanabilirlik, düşük maliyet, kolay erişim ve zaman tasarrufu gibi bazı özellikleri ile SCoT primerlerinin çeşitli Rosa germplazmaları arasındaki genetik ilişkiyi incelemek için oldukça güvenilir ve uygun primerler olduğu sonucuna varıldığı bildirilmiştir.

Huded vd. (2020) Hindistan gen bankasında bulunan 58 *Coffea canephora* genotipinde moleküler karakterizasyon çalışması yapmak için 49 SRAP ve 31 SCoT markörü kullanarak yaptıkları çalışmada, sırasıyla elde edilen veriler, SRAP ve SCoT markörleri için bant sayısı 632/507, polimorfik bant sayısı 507/225,

polimorfizm oranı %80.22/ 67.97, ortalama polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.48/0.37, çözme gücü (Rp) 15.60/14.84, işaret indeksi ise (MI) 4.60/2.58 olarak bildirilmiştir. Sonuç olarak çalışmada, STRUCTURE kümeleme analizinde tüm genotiplerin dört alt popülasyonda gruplandığı, SRAP ve SCoT markörlerinin kahve genetik varyasyonu için uygun olduğu ve *C. canephora* ıslah proglamlarında kullanılacak 31 farklı genotip keşfedildiği bildirilmiştir.

Yılmaz ve Çiftçi (2021), 94 Türk *Laurus nobilis* genotipinde, karakterizasyon ve genetik çeşitlilik araştırması için, 16 ISSR ve 10 SCoT belirteci ile yaptıkları çalışmada, sırasıyla bant sayısı 373/227, polimorfik bant sayısı 348/175, polimorfizm oranı %93.3/%77.1 ve genetik uzaklık değerleri 0.17-0.70/0.12-0.51 olarak bildirilmektedir. Genotiplerde UPGMA kümelemesi sonucu benzer bir polimorfizm dağılımı tespit edilirken, korelasyon kat sayısı 0.25 şeklinde belirtilmiş, çalışmanın gelişmiş ıslah yöntemleri ve ıslahçılar için kaynak oluşturduğu, genetik varyasyonun korunmasına fayda sağlayacağı bildirilmiştir.

Gupta vd. (2021), Hindistan'ın farklı bölgelerinden ve dünyanın bazı bölgelerinden çeşitleri temsil eden 36 *Ocimum* genotipinde, genetik çeşitliliği belirlemek için 18 SCoT markörü ve 15 ISSR markörü kullanarak yaptıkları çalışmada, SCoT markörlerinin polimorfizm oranı %84.6, polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.65 ve çözme gücü (Rp) 8.80 değerleri ile ISSR markörlerinden daha yüksek ortalama değerlerinin elde edildiğini, SCoT ve ISSR markörleri ile yapılan kümeleme analizinde bölgesel temelli gruplamaların olmadığını ve çaprazlanacak ana hatların seçilmesinde, ISSR ve SCoT analizine dayalı *Ocimum* genotiplerinde genetik varyasyonlar, hem genom haritalaması, yetiştirme amaçları hem de gen bankalarındaki genotiplerin iyileştirilmesi, ayrıca kullanımının artırılması için hedeflenen ileri popülasyonlar oluşturmak adına kullanılabileceğini bildirmektedirler.

Khodae vd. (2021), İran kökenli 48 *Aegilops triuncialis* türünde, genetik çeşitliliği görmek için, 13 CBDP, 14 SCoT ve 16 ISSR primeri kullanarak yaptıkları çalışmada, sırasıyla 96, 147 ve 152 bant elde ederek toplamda 359 güçlendirilmiş DNA parçası elde edildiğini, 13 CBDP primeri ile %95.05 polimorfizm oranıyla 101 bant; 14 SCoT primeri ile %90.74 polimorfizm oranıyla 162 bant; 16 ISSR primeri ile %93.98 polimorfizm oranıyla toplamda 152 bant elde edildiğini ve bu çalışmada İran kökenli 48 *Aegilops triuncialis* türünde yüksek düzeyde bir polimorfizm elde edildiğini, CBDP, SCoT ve ISSR belirteçlerinin türler arasındaki

genetik çeşitliliği değerlendirmedeki etkinliğinin doğrulanarak genetik çeşitliliğin kapsamlı bir modelinin gösterildiğini ve gelecekteki buğday ıslah çalışmalarında yeni bir bakış açısı sağlayacağını bildirmişlerdir.

Ghobadi vd. (2021), *Triticum aestivum*, *Aegilops cylindrica* ve *Aegilops crassa* türlerinden 91 örnek setinde, genetik çeşitliliği görmek için 15 SCoT ve 15 CBDP belirteci kullanarak yaptıkları çalışmada, tamamı polimorfik olan sırasıyla 262 ve 298 bant elde edilerek, polimorfik bant sayısı (NPB), polimorfik bilgi içeriği (PIC), çözme gücü (Rp) ve işaret indeksi (MI) değerlerinin SCoT primerleri için, 14-23, 0.31-0.39, 2.55-7.49 ve 7.56-14.46 ile ortalama 17.47, 0.34, 10.44 ve 5.69; CBDP primerleri için, 15-26, 0.28-0.36, 3.82-6.94 ve 4.74-7.96 ile ortalama 19.87, 0.31, 5.35 ve 6.24 olarak tespit edildiğini, küme analizi ve popülasyon yapısı değerlendirmelerinde SCoT ve CBDP belirteçlerinin, tüm örnekleri genomik yapılarına göre gruplandırıldığını, kullanılan markörlerin buğdayda yabancı akrabalar arasındaki genetik çeşitliliğin değerlendirilmesinde oldukça etkili yöntemler olduğunu bildirmişlerdir.

Yeken vd. (2022), 53 yaygın yerel fasulye çeşidi, 22 tescilli fasulye çeşidi ve USDA'dan 12 genotipte, genetik çeşitliliği görmek için 8 SCoT primeri kullanarak yaptıkları çalışmada, 105'i %88.98 oranında polimorfik bulunan toplamda 115 bant elde ettiklerini, en yüksek bant sayısının 21 bant ile SCoT 21 primerinden elde edildiğini, en düşük bant sayısının ise 7 bant ile SCoT 25 primerinden elde edildiğini ve sonuç olarak SCoT belirteçlerinin coğrafi ayırma etkili olarak genetik/ıslah çalışmalarında daha fazla etkinlik ve kesinlik getireceğini; BLCK7, VN16 ve BN23 çeşitlerinin genetik olarak daha farklı olduğunu, fasulye ıslah programlarında ebeveyn olarak kullanılması gerektiğini bildirmektedirler.

Zhang vd. (2022), *Salicornia persica* türünde 15 popülasyondan toplamda 102 birey ile *S. persica* tarihi ve genetik varyasyonu incelemek, 15 popülasyon içerisinde genetik gruplandırma yapmak ve *S. persica*'nın genetik karakteri hakkında veri oluşturma sebepleriyle, 10 SCoT belirteci kullanarak yaptıkları çalışmada, %94.18 oranında yüksek polimorfik bantlar, 0.27 polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri ve 1.38 alel sayısı bildirerek, SCoT işaretleyicilerinin bu türün genetik analizi için güven arz eden bir yöntem olduğunu ve popülasyonlar içi yüksek düzeyde genetik çeşitlilik elde edildiğini bildirmektedirler.

Igwe vd. (2022), Belçika'daki International Transit Center'dan temin edilmiş farklı genomlara ait 66 *Musa* çeşidinde, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi amacıyla, ISSR ve SCoT markörleri ile yaptıkları çalışmada, ISSR ve SCoT belirteçleri için sırasıyla 299 ve 326 bant elde edilerek, polimorfizm oranının yine sırasıyla %91.21-100 ve %96.97-100 aralığında olduğunu, SCoT markörlerinin genetik çeşitlilik çalışmalarında ISSR'den daha fazla bilgi verdiğini ve böylelikle *Musa* türlerinde ileri üreme ve koruma çalışmaları için SCoT işaretleyicilerinin etkinliğini ortaya koyduğunu bildirmektedirler.

Khang vd. (2022), Vietnam'da bulunan Hindistan Cevizi Araştırma Merkezi'nden toplanmış 19 Hindistan cevizi çeşidinden 57 bireyde, genetik karakterizasyon araştırması yapmak için 15 SCoT primeri kullanarak yaptıkları çalışmada toplam 3774 bant elde ettiklerini, primer başına 251.6 bant ile bantlardaki uzunluklar için 150-8500 bp arası değerler kaydedildiğini ve yabancı Cüce popülasyonlarına kıyasla Vietnam Cücelerinde daha yüksek derecede bir melezleme olduğu belirtilmektedir. Sonuç olarak genetik markörler ile Vietnam hindistan cevizi türlerinde yapılan ilk karakterizasyon çalışmasıyla, daha yüksek farklılaşma potansiyeli taşıyan SCoT işaretleyicilerinin, Vietnam menşeli veya yabancı menşeli hindistancevizi çeşitleri arasındaki ilişkiyi nispeten gösterebildiği ve büyük hindistan cevizi genotip koleksiyonunda varyasyonun keşfedilmesine katkı sağlanacağı bildirilmektedir.

Buer vd. (2022), İç Moğolistan'da 10 *Prunus sibirica* L. popülasyonundan 278 bireyde, genetik varyasyon çalışması için SCoT markörleri ile yaptıkları çalışmada, 23 SCoT primerinden elde edilen 289 polimorfik bant ile %98.87 polimorfizm yüzdesiyle primer başına ortalama 12.6 bant, SCoT21, SCoT32 ve SCoT53 primerlerinde 17 bant ile %100 polimorfizm yüzdesi ve SCoT25 primeri ile en az 9 bant ile %90 polimorfizm yüzdesi bildirerek, SCoT markörlerinin son derece polimorfik olduğunu, genetik çeşitlilik programlarında uygun olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca İç Moğolistan'daki *P. sibirica*'nın SCoT markörleri ile yapılan genetik varyasyon analizinin *P. sibirica* türünde çeşit ıslahı ve geliştirme çalışmaları için bir temel sağlayabileceğini belirtmektedirler.

Karagöz vd. (2022), 70 *Origanum acutidens* genotipinin, genetik varyasyon ile popülasyon dokusunu agro-morfolojik niteliklere ve SCoT markör yöntemine dayanarak incelenmesi hakkında yürüttükleri çalışmada, 10 SCoT belirteci kullanarak toplamda 109 polimorfik bant elde edilmiş, polimorfik bilgi

içeriği (PIC), etkili allel ortalama sayısı (Nei), Nei genetik çeşitliliği (H) ve Shannon bilgi indeksi (I) sırasıyla ortalama 0.36, 1.63, 0.38 ve 0.57 olarak bildirilmektedir. UPGMA analizinde 70 genotipin üç ana gruba ayrıldığı ve SCoT belirteçleri yardımı ile başarılı bir karakterizasyon yapıldığı, ortaya koyulan varyasyon ve doku analizlerinin, ıslah çalışmalarında endemik türler ile tehlike altında bulunan türlerin muhafazası için etkin bir şekilde kapsamlı bilgi sağlayacağı belirtilmektedir.

Sevindik vd. (2022), İzmir ilinden toplanmış 12 *Elaeagnus angustifolia* popülasyonunda, genetik varyasyon değerlendirmesi için 8 SCoT belirteci kullanılarak yapılan çalışmada, 33'ü polimorfik olmak üzere 43 bant ve %79.06 değerinde polimorfizm elde edildiğini, en az benzerliğin 0.455 değeri ile Gümüldür-Özdere ve Çeşme-Ayayorgi popülasyonlarında, en fazla benzerliğin ise 0.962 değeri ile Balçova ve Urla-Zeytinaları popülasyonlarında görüldüğü belirtilmektedir. Yapılan UPGMA analizinde iki ana grup oluştuğu ve genetik varyasyon ile genetik değerlendirme çalışmalarında SCoT işaretleyicilerinin *E. angustifolia* popülasyonları için genetik değerlendirme yapılmasında yararlı bir kaynak olabileceği bildirilmektedir.

Sankar vd. (2022), gama ışınları ile indüklenen börülce mutantlarında, genetik değişimin değerlendirilmesi için, 5 SCoT markörü kullanarak yaptıkları çalışmada, 20'si polimorfik toplamda 87 bant üreterek, %18.18 ila %28.57 arasında değişen, ortalama %21.12 polimorfizm değeri bildirmektedirler. Elde edilen en yüksek bant sayısı 39 ile SCoT10 primerinden, en düşük bant sayısı ise 7 ile SCoT9 primerinden üretilmiş, polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri 0.197 ila 0.345 arasında değişmektedir. UPGMA analizi sonucu SCoT işaretleyicilerinden 2 ana grup oluştuğu ve gama ışınlamasının sebep olduğu nesillere miras kalacak genetik değişkenlik ortaya çıkarak, gama ışınlamasının gelişme ve verim özelliklerinde değişiklikler meydana getirdiği ve bu değişikliklerin börülce gelişimine yardımcı etki sağladığı belirtilmektedir.

Akbari vd. (2022), 3 sentetik ve 8 ebeveyn rezene ekotipinde, genotipler ve sentetik çeşitlerin ayırt edilmesi için 10 SCoT belirteci kullanarak yaptıkları çalışmada, 44'ü polimorfik olmak üzere toplamda 54 bant ürettiklerini, en fazla bantın 9 bant ile SCoT2 ve SCoT14 primerlerinden, en az bantın ise 5 bant ile SCoT17 primerinden elde edildiğini, en yüksek polimorfik bilgi içeriği (PIC), çözme gücü (RP) ve işaretleme indeksi (MI) değerlerinin sırasıyla SCoT2, SCoT29

ve SCoT31 primerlerinden üretildiğini, genotipler arası genetik benzerliğin 0.31 ila 0.76 arasında değiştiğini, ortalama benzerliğin 0.54 olarak elde edildiğini, genotiplerin farklılık göstererek 5 ana grup oluşturduğunu, PCoA sonuçlarının bu bulguları doğruladığını, işaretleyicilerin çeşitleri başarılı bir şekilde ayırdığını, çevresel şartlardan bağımsız olarak rezene çeşit tanımlaması ve ayırt edilmesinde önemli işaretleyiciler olduğunun kanıtlandığını bildirmektedirler.

Mishra vd. (2022) Hindistan'da yetiştirilen 20 farklı *Coffea arabica* ve *Coffea canephora* çeşitlerinde, moleküler karakterizasyon ve genetik yapı analizi için 36 SCoT primeri kullanarak yapmış oldukları çalışmada, elde edilen 368 banttan, 192 bant ile %52.17 oranında polimorfizm bulduklarını, sırasıyla ortalama PIC değerleri, çözme gücü (RP), ortalama etkin multipleks oranı (EMR) ve belirteç indeksi (MI) için 0.27, 16.04, 3.26 ve 1.12 değerlerini elde ettiklerini ve SCoT primerleri kullanılarak kahve çeşitlerindeki varyasyonun tanımlanmasında, markör tekniklerinin ayırt etme kabiliyetinin olduğunu ve kahve çeşitlerinde genetik karakterizasyon çalışmaları için fayda sağlanacağını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki Materyali

Bu çalışmada bitki materyali olarak TÜBİTAK 120R015 nolu (Ülkemiz Doğal Florasında Yaygın Olarak Bulunan Pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) Bitkisinin Tarımsal Özellikler Açısından Değerlendirilmesi ve Islah Materyali Olma Potansiyellerinin Araştırılması) proje kapsamında ülkemiz doğal florasından toplanan 42 pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) genotipi ve 2 adet tescilli çeşit kullanılmıştır. Materyale ait toplanan il bilgileri ile genotip ve çeşitlerin pasaport bilgileri Şekil 3.1 ve Tablo 3.1’de verildiği gibidir.



Şekil 3. 1. Pelemir (*C. syriaca*) genotiplerinin toplandığı iller

Tablo 3.1. Pelemire (*C. syriaca*) ait genotip ve çeşitlerin pasaport bilgileri

Çeşit/Genotip	İl	İlçe	Köy	Rakım
G37	D.bakır	Ergani	Salıca	630
G38	D.bakır	Ergani	Ahmetli	630
G39	D.bakır	Ergani	Bereketli	657
G40	D.bakır	Ergani	Bereketli	650
G62	D.bakır	Ergani	Merkez	877
G63	D.bakır	Kayapınar	Devedurağı	792
G64	D.bakır	Kayapınar	Devegeçidi	785
G47	K.maraş	Elbistan	Pınarbaşı	1261
G48	K.maraş	Elbistan	İğde	1242

Tablo 3. 1. (devam)

Çeşit/Genotip	İl	İlçe	Köy	Rakım
G49	K.maraş	Ekinözü	Soysallı	1177
G50	K.maraş	Afşin	Çobanbeyli	1273
G51	K.maraş	Afşin	Tarlacık	1304
G52	K.maraş	Afşin	Çomüdüz	1338
G53	K.maraş	Afşin	Çoğulhan	1252
G55	K.maraş	Elbistan	Evciyük	1203
G56	K.maraş	Elbistan	Akbayır	1245
G57	K.maraş	Elbistan	Söğütlü	1208
G58	K.maraş	Elbistan	Demircilik	1316
G59	Malatya	Doğanşehir	Aydınlar	1099
G93	Malatya	Merkez	Akçadağ	1050
G61	Elazığ	Hankendi	Sakabaşı	1299
G65	Mardin	Merkez	Merkez	907
G67	Mardin	Midyat	Sarıköy	915
G66	Şırnak	İdil	Karalar	888
G68	Batman	Beşiri	Örmegöze	956
G69	Batman	Beşiri	Gökdoğan	643
G70	Bitlis	Hizan	Çökekyazı	755
G92	Bitlis	Ahlat	Adaksu	1650
G72	Ağrı	Patnos	Daldalık	1737
G78	Erzurum	İspir	Merkez	1297
G79	Sivas	Zara	Sucak	1375
G80	Sivas	Zara	Hatip	1450
G81	Sivas	Zara	Ekinli	1379
G82	Sivas	Ulaş	Merkez	1657
G84	Muş	Bulanık	Günbatmaz	1532
G85	Muş	Merkez	Şenoba	1276
G86	Nevşehir	Avanos	Kalaba	1170
G87	Yozgat	Boğazlıyan	Gövdecili	1091
G88	Erzincan	Merkez	Mollaköy	1174
G89	Erzincan	Merkez	Yaylabaşı	1256
G90	Erzincan	Merkez	Çatalören	1276
G91	Erzincan	Merkez	Tercan	1425
Karahan	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü - Ankara			
Ziya	Ziya Organik Tarım İşletmeleri A.Ş. - İstanbul			

3.2 Yöntem

3.2.1 Moleküler Analizler

3.2.1.1 Dna izolasyonu

Genç yaprak dokularında bulunan DNA, Doyle ve Doyle (1990)'nin CTAB protokolü esas alınarak izole edilmiştir.

DNA izolasyonu aşağıda verilmiş olan uygulamalar gerçekleştirilerek tamamlanmıştır;

1. Genç yaprak dokularından alınan örnekler 2 ml'lik ependorf tüplere konularak, üzerine 650 µl Fresh Buffer (125 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA pH 8.0, 0.8 M NaCl, %1 CTAB, %1 sarkosil, %2 PVP-40 (K29-32), %0.5 sodyum) ilave edilmiş ve örnekler 65 °C' ye ayarlanan kuru blok termostatta inkübasyon işlemine tabii tutulmuştur. Toplamda 1 saat süren işlem boyunca, 10 dakika aralıklarla ependorf tüpler dokunun tampon çözeltiye iyice karışması için vortex ile karıştırılmıştır.

2. Bir saat sonunda inkübe edilen numuneler iyice ezilerek, üzerine 650 µl 24:1 oranında kloroform izomil alkol ilave edilmiştir.

3. Kloroform izomil alkol eklenen numuneler 20 dakika boyunca alt-üst edildikten sonra, 13000 rpm' de 4°C sıcaklıkta 20 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

4. Santrifüj işleminden sonra numuneler gözle görülür bir şekilde 2 faza ayrılmaktadır. Üst kısımda şeffaf, renksiz, DNA içeren faz, alt kısımda ise yeşil renkli yaprak dokusu içeren faz bulunmaktadır. Üst faz otomatik pipet yardımıyla, son derece hassas bir şekilde 1.5 ml' lik ependorf tüplere aktarılmıştır.

5. 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınan, DNA fazına 750 µl izopropanol ilave edilerek tüpler 5-10 dakika alt-üst edilmek suretiyle karıştırılmıştır. Daha sonra numuneler 15-20 dakika -20°C'de beklemeye alınmıştır.

6. Bekleme süresinin sonunda -20°C' den alınan numuneler, 13000 rpm'de 4°C sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edilmiştir.

7. Santrifüj işleminin ardından tüplerin dibinde gözle kolaylıkla görülebilen DNA peletleri oluşmaktadır. Peletler tüplerin dibinde kalacak şekilde sıvı kısım dikkatli ve hassas bir şekilde dökülerek yalnızca peletlerin kalması sağlanmıştır.

8. DNA peletlerinin üzerine 250 µl %70'lik etanol ilave edilerek yine hassas bir şekilde 5-10 dakika al-üst edilmek suretiyle, DNA peletlerinin kimyasallardan arınması için yıkama işlemi yapılmıştır.

9. Yeniden yalnızca pelet kalacak şekilde damlatma yöntemiyle hassas bir şekilde tüpler boşaltılmıştır.

10. Ependorf tüpleri ağızları açık şekilde oda sıcaklığında bekletilerek iz miktarda kalan etanolün uçması sağlanmıştır.

11. Son olarak peletlere 100 µl ultra saf su eklenerek çözdürülmüş, elde edilen stok DNA'nın konsantrasyon ve kalitesini belirlemek için NanoDrop cihazında yapılacak ölçüme hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.2 DNA Optimizasyonu

İzolasyon işleminin ardından güçlü ve net bir bant görüntüsü elde edebilmek için DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık durumunu optimize etmek gerekmektedir.

Elde edilen stok DNA'ların konsantrasyonu ve kalitesi, DS-11 FX+ spektrofotometre (DeNovix Inc., ABD) kullanılarak tespit edilmiştir.

36 SCoT markörü ile öncelikle 4 DNA örneği kullanılarak, görüntüler neticesinde seçilen 12 SCoT primeri ile 44 örnek DNA üzerinde çalışılmıştır.

3.2.1.3 SCoT Analizi

Tablo 3.2. 'de bağlanma sıcaklıkları ve baz dizilimleri verilmiş olan SCoT primerleri Sentegen Biyoteknoloji aracılığıyla elde edilmiştir. Collard ve Mackill

(2009) protokolü baz alınarak, yapılan küçük değişiklikler ile çalışma yürütülmüştür.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan SCoT primerlerine ait baz dizimleri ve bağlanma sıcaklıkları

Primer	Baz Dizilimi	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Baz Sayısı
SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	50	18
SCoT5	CAACAATGGCTACCACGA	50	18
SCoT8	CAACAATGGCTACCACGT	50	18
SCoT16	ACCATGGCTACCACCGAC	50	18
SCoT20	ACCATGGCTACCACCGCG	50	18
SCoT21	ACGACATGGCGACCCACA	50	18
SCoT23	CACCATGGCTACCACCAG	50	18
SCoT26	ACCATGGCTACCACCGTC	50	18
SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG	50	18
SCoT29	CCATGGCTACCACCGGCC	50	18
SCoT30	CCATGGCTACCACCGCG	50	18
SCoT31	CCATGGCTACCACCGCCT	50	18

44 adet DNA ürünü için yüksek polimorfizm ve güçlü bant veren 12 SCoT primeri seçilmiştir. PCR çoğaltma işlemi için 15 µl reaksiyon hacmi oluşturulmuştur.

15 µl PCR hacminin içeriği; 2 µl 20 ng derişimindeki DNA örneği, 1.5 µl dNTP (Thermo Scientific), 1.2 µl primer, 1.5 µl 10XPCR buffer (Thermo Scientific), 1.5 µl MgCl₂ (Thermo Scientific), 0.2 µl Taq DNA polimeraz (5U/µl-Thermo Scientific) ve 7.1 µl ddH₂O bileşenlerinden oluşturulmuştur. PCR ürününde kullanılmış olan kimyasal içerik ve miktarları Tablo 3.3.' de verildiği gibidir.

Tablo 3.3. PCR’da kullanılan kimyasal değerleri

Kimyasallar		Stok	Miktar	Final
Genomik DNA		50 ng/µl	2 µl	~20 ng
ddH ₂ O			7.1 µl	
Primer		5 pM	1.2 µl	0.375 pM
MgCl ₂		25 mM	1.5 µl	3.125 mM
dNTP		2 mM	1.5 µl	0.3 mM
10XPCR Buffer	Tris-HCL (pH 8.8)	100 mM		10 mM
	KCl	500 mM	1.5 µl	50 mM
	Nonidet P-40	%0.08		%0.08
Taq DNA Polimeraz		5 U/µl	0.2 µl	1 U
Toplam Hacim			15 µl	

SCoT-PCR reaksiyon kademeleri şu şekildedir; 94°C sıcaklıkta 3 dakika ön denatürasyon, 94°C sıcaklıkta 1 dakika denatürasyon, 50°C sıcaklıkta 1 dakika annealing, 72°C sıcaklıkta 2 dakika extension ve yine 72°C sıcaklıkta 5 dakika, 34 denatürasyon döngüsü ile PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR kademeleri tablo halinde Tablo 3.4.’ de verildiği gibidir. Reaksiyon kademeleri BIO-RAD T100 Termal Cycler PCR cihazında sağlanmıştır.

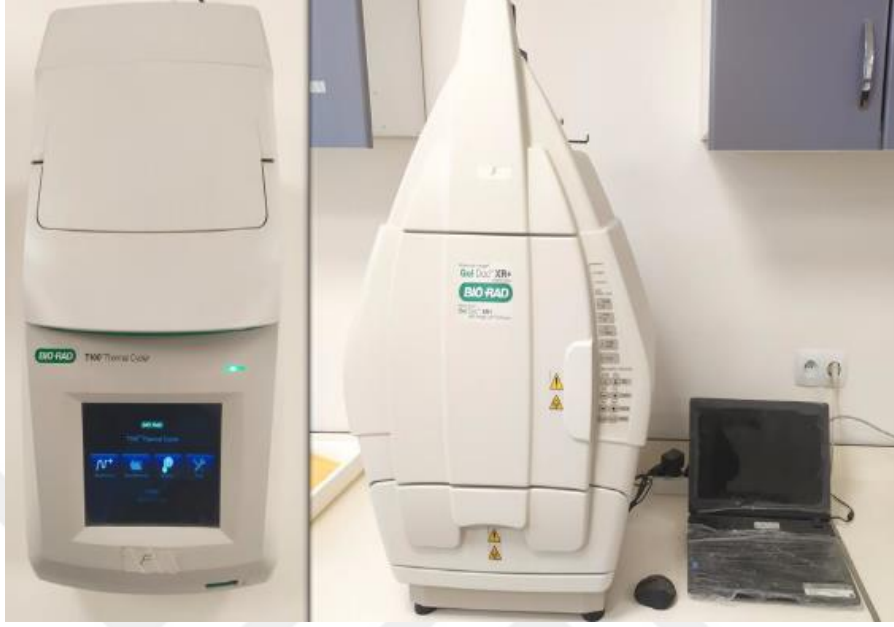
Tablo 3.4. SCoT-PCR kademeleri

Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)	Döngü	Kademe
94	5	1	Ön denatürasyon
94	1		Denatürasyon
50	1	34	Annealing
72	2		Extension
72	5	1	Final extension
12	5	1	

3.2.1.4 Jel Elektroferez Uygulaması

SCoT markörleri ile yürütülen moleküler analizinden elde edilen DNA örnekleri PCR’da çoğaltma işleminden sonra, ürünlerin her birine 2 µl blue dye eklenerek, elektroferez sistemi üzerinde yer alan, 1x TAE tamponu ile hazırlanmış %1.2’lik agaroz jel üzerine 10 µl’lik örnekler yüklenmiştir. Yükleme tamamlandıktan sonra elektroferez sistemi 80 voltta 1 saat süreyle koşturulmuştur. Koşturma işleminin tamamlanmasının ardından agaroz jel, seyreltilmiş etidyum

bromür ($C_{21}H_{20}BrN_3$) ile boyanmış ardından saf su içerisinde bekletilmiştir. Görüntüleme, UV transilluminatör (BIO-RAD ChemiDoc™ XRS+ Imaging System) cihazı ile yapılarak bant görüntüleri elde edilmiş ve yorumlanmıştır.



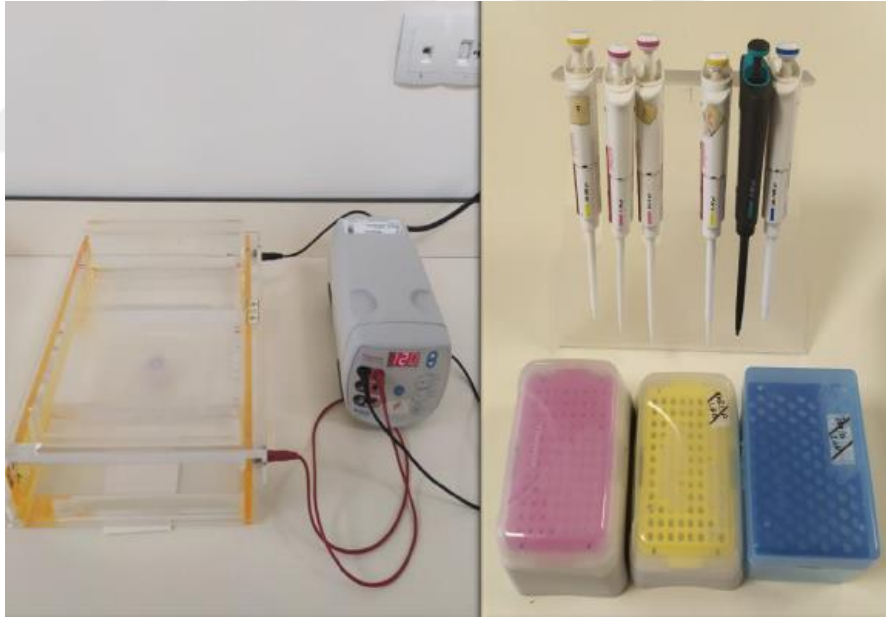
Şekil 3. 2. Analizlerde kullanılan PCR ve UV transilluminör cihazları



Şekil 3. 3. Çalışmaya ait santrifüj cihazları



Şekil 3. 4. Çalışmaya ait manyetik karıştırıcı, vortex ve hassas terazi cihazları



Şekil 3. 5. Çalışmaya ait elektroforez sistemi ve otomatik pipet seti

3.2.2 Veri Değerlendirmeleri

UV transilluminator yardımıyla 12 primerden elde edilen jel görüntülerinde yer alan bantlar, var (1) ve yok (0) şeklinde nitelendirilerek genetik benzerlik matrisleri oluşturulmuş ve Nei (1978)'e göre hesaplanmıştır. UPGMA kümeleme analizi ve istatistiki analizleri yapmak için Mega 7, STRUCTURE ve PopGen paket programlarından faydalanılmıştır.

3.2.3 SCoT Markörleri ile Genetik Varyasyon Değerlerinin Eldesi

3.2.3.1 Polimorfizm oranı (PO)

SCoT primerlerinin her biri için hesaplanmaktadır. Polimorfizm oranı, polimorfizm gösteren toplam bant sayısının skorlanabilecek toplam bant sayısına oranı ile hesaplanmaktadır. (**PO = TPBS/TSBSx100**)

3.2.3.2 PIC değeri (Polimorphism Information Content)

Güçlü ve net görüntüler elde edilen DNA bantlarının manuel yöntemle var (1) ve yok (0) şeklinde skorlanmasıyla elde edilen değerdir. Roldán - Ruiz vd. (2000)'e göre bant varlığı (1) 'fi' ve bant yokluğu (0) '(1- fi) ' olarak ifade edilmektedir. (**PIC_i =2fi(1-fi)**)

3.2.3.3 H değeri (Genetik Varyasyon)

PopGene yardımıyla her bir primerden elde edilmiş olan H değerinin ortalaması ile belirlenmektedir.

3.2.3.4 I değeri (Shannon İndeksi)

PopGene yardımıyla her bir primer genotipindeki I verilerinin ortalaması ile tespit edilmektedir.

3.2.3.5 NE değeri (Etkili Allel Sayısı)

PopGene yardımıyla her bir primer genotipindeki NE verilerinin ortalaması ile tespit edilmektedir.

3.2.3.6 HT değeri (Toplam Genetik Varyasyon)

PopGene yardımıyla her bir primer genotipindeki HT verilerinin ortalaması ile tespit edilmektedir.

3.2.3.7 GM değeri (Genetik Mesafe)

Genetik uzaklık verilerine göre iller bazındaki genotiplerin bulunma durumları Nei genetik uzaklıklarının ortalaması esas alınarak tespit edilmektedir.

3.2.3.8 ΔK değeri

SCoT analizi sonucu skorlanan var (1) ve yok (0) değerleri baz alınarak STRUCTURE programı yardımıyla elde edilen klasörler ile internet üzerinden STRUCTURE HARVESTER uygulaması ile oluşan tabloda, pik noktasıyla kümelenme değeri yani ΔK verisi elde edilmektedir.

4. BULGULAR

4.1 DNA Miktar ve Kalite Değerlendirmesi

Çalışmada elde edilecek bantların netliği, anlaşılabilirliği ve sağlıklı bir şekilde yorumlanabilmesi açısından, DNA örneklerinin kalite ve miktar tespiti önem arz etmektedir. Nanodrop yardımıyla tekrarlı olarak her bir DNA örneğinin kalitesi ve miktarı hassas bir çalışmayla tespit edilmiştir. Sağlıklı bir bant görüntüsü elde edebilmek için DNA örneklerinin konsantrasyonlarıyla orantılı olarak seyreltme yüzdeleri hesaplanmış ve ddH₂O ilavesi ile 20 ng/ µl derişime seyreltilmiştir. Karaca vd. (2005)' e göre DNA için ideal saflık 260/280 değerlerinin 1.8- 2 arası değer almasına bağlıdır. Elde edilen DNA kalite değerleri ile yapılan çalışmada bozuk bir okumaya denk gelinmemiştir. SCoT yöntemi analiz sonuçlarında bant görüntüleri oldukça sağlıklı ve yüksek polimorfizm elde edilmiştir. Nanodrop ile elde edilen değerler Tablo 4.1. 'de verildiği gibidir.

Tablo 4.1. Nanodrop ile elde edilen saflık ve konsantrasyon değerleri

İl Kodu	Genotip Kodu	DNA Konsantrasyonu	260/280
D.bakır1	G37	190.285	1.70
D.bakır2	G38	220.840	1.30
D.bakır3	G39	85.910	1.71
D.bakır4	G40	475.210	1.85
D.bakır5	G62	130.542	1.21
D.bakır6	G63	90.21	1.51
D.bakır7	G64	200.015	2.02
K.maraş1	G47	60.288	1.37
K.maraş2	G48	300.105	1.61
K.maraş3	G49	421.210	1.81
K.maraş4	G50	320.911	1.73
K.maraş5	G51	58.035	1.87
K.maraş6	G52	270.611	1.54
K.maraş7	G53	530.307	1.77
K.maraş8	G55	125.555	1.87
K.maraş9	G56	54.210	1.38
K.maraş10	G57	140.360	1.15
K.maraş11	G58	115.320	1.91
Malatya1	G59	82.502	1.39
Malatya2	G93	90.322	1.68
Elazığ1	G61	133.810	1.20

Tablo 4. 1. (devam)

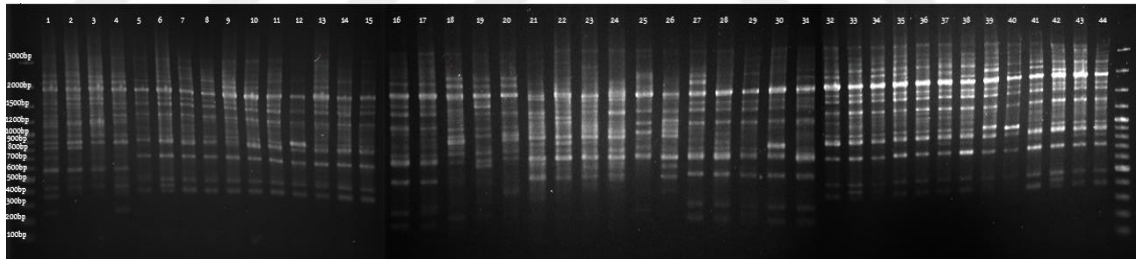
İl Kodu	Genotip Kodu	DNA Konsantrasyonu	260/280
Mardin1	G65	138.545	1.89
Mardin2	G67	145.322	1.38
Şırnak1	G66	225.620	2.02
Batman1	G68	140.102	1.14
Batman2	G69	190.512	1.32
Bitlis1	G70	165.208	1.90
Bitlis2	G92	115.211	1.97
Ağrı1	G72	315.203	1.61
Erzurum1	G78	70.405	2.52
Sivas1	G79	45.603	1.53
Sivas2	G80	105.863	1.36
Sivas3	G81	127.633	1.22
Sivas4	G82	215.701	1.46
Muş1	G84	45.298	1.52
Muş2	G85	113.638	1.9
Nevşehir1	G86	45.711	1.49
Yozgat1	G87	130.714	1.15
Erzincan1	G88	412.301	1.62
Erzincan2	G89	92.920	1.61
Erzincan3	G90	75.445	1.80
Erzincan4	G91	125.250	2.01
Çeşit	Karahan	350.411	1.84
Çeşit	Ziya	255.205	1.59

4.2 SCoT Analizi

36 SCoT primeri ile yapılan ön çalışma sonucunda en temiz, güçlü ve polimorfik bant elde edilen 12 SCoT primerinden 219' u polimorfik olmak üzere toplamda 229 bant elde edilmiştir (Tablo 4.2.). SCoT primerleri içinde en yüksek bant sayısı 35 bant ile SCoT16 dan elde edilirken en az bant sayısı 12 bant ile SCoT3 primerinden elde edildi ve toplamda ortalama bant sayısı primer başına 19.08 bant, ortalama polimorfik bant sayısı ise primer başına 17.58 bant olarak belirlenmiştir. Skorlanan bantlarda polimorfizm oranı %83.33 ile %95.83 arasında değişkenlik gösterirken ortalama polimorfizm oranı %91.8 olarak belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı %83.33 değeri ile SCoT3 primerinden, en yüksek

polimorfizm ise %95.83 değeri ile SCoT20 primerinden elde edildiği tespit edilmiştir.

SCoT analizi sonucu PopGene programından elde edilen verilere göre en yüksek polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri 0.32 ile SCoT20 ve SCoT29 primerlerinden, en yüksek çözme gücü (RP) değeri 22.50 ile SCoT16 primerinden, en yüksek genetik varyasyon (H) değeri 0.31 ile SCoT20 ve SCoT29 primerlerinden ve en yüksek Shannon indeksi (I) değeri 0.47 ile yine SCoT20 ve SCoT29 primerlerinden elde edilmiştir. Totalde en yüksek toplam genetik eşitlilik (HT) değeri 0.29 ile SCoT8 primerinden, en düşük değer ise 0.02 ile SCoT31 primerinden elde edilmiş ve ortalama değer 0.19 olarak hesaplanmıştır. Etkili allel sayısı değeri (Ne) en yüksek 1.53 ile SCoT20 ve SCoT29 primerlerinden, en düşük 1.39 ile SCoT5 primerinden elde edilmiş ve ortalama değer 0.45 olarak bulunmuştur. Elde edilen tüm parametreler listesi izelge 4.2 ve izelge 4.3’de verildiği gibidir. Çalışmaya ait temsili bir bant görüntüsü ve skorlama rneği Şekil 4.1. ve Şekil 4. 2’ de verildiği gibidir.



Şekil 4. 1. SCoT analizinden alınan 44 genotipi temsil eden bant görüntüsü

ÇESİTLER/bp	S16-250	S16-300	S16-310	S16-350	S16-370	S16-400	S16-410	S16-420	S16-490	S16-500	S16-540	S16-600	S16-610	S16-690	S16-700	S16-800	S16-870	S16-900	S16-950	S16-990	S16-1000	S16-1190	S16-1200	S16-1300	S16-1390	S16-1400	S16-1550	S16-1700	S16-1900	S16-2000	S16-2200	S16-2300	S16-2600	S16-2800	S16-3000						
G1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0					
G2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0			
G3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0			
G4	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1			
G5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1			
G6	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1			
G7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1			
G8	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0			
G9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1			
G10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1			
G11	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1		
G12	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0		
G13	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1		
G14	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0		
G15	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1		
G16	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
G17	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	
G18	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	
G19	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
G20	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
G21	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
G22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	
G23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	
G24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
G25	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
G26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
G27	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0
G28	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
G29	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	
G30	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	
G31	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
G32	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1
G33	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	
G34	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
G35	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
G36	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1
G37	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
G38	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0
G39	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
G40	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1
G41	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
G42	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
G43	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
G44	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0

Şekil 4. 2. SCoT primerinden SCoT16'ya ait 44 pelemir genotipini temsil eden bant görüntüsünün var (1) ve yok (0) analizi

Tablo 4.2. SCoT yöntemi için bazı parametreler

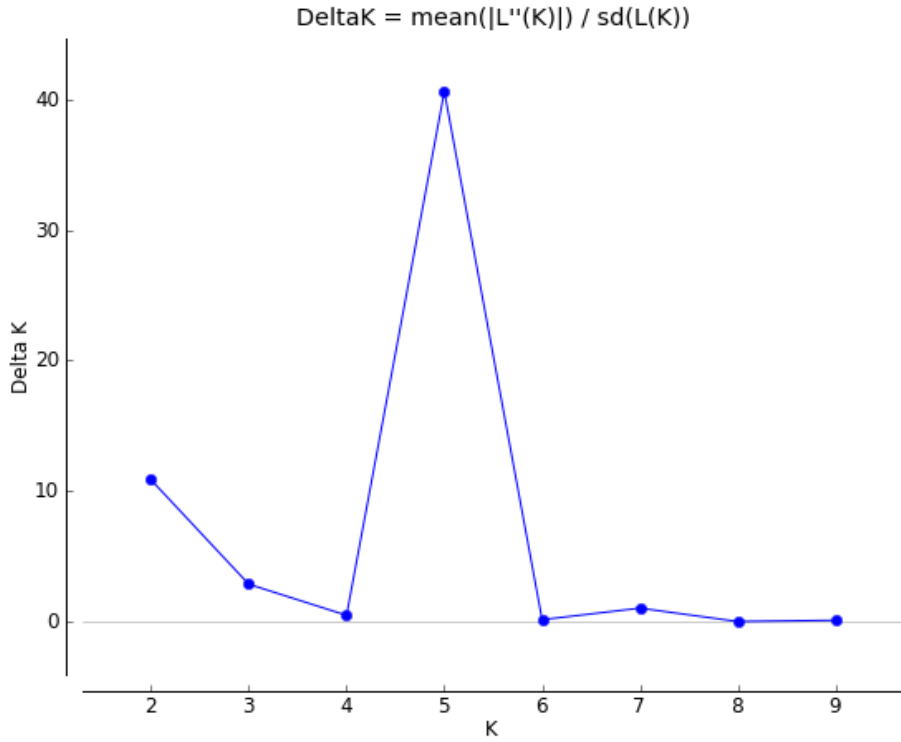
Primer No	Tm (°C)	GC (%)	TB	PB		PIC	RP
				Sayı	Yüzde(%)		
Scot3	50.0	55.5	12	10	83.33	0.27	6.68
Scot5	50.0	50.0	13	12	92.31	0.26	8.41
Scot8	50.0	50.0	19	18	94.74	0.30	8.11
Scot16	50.0	61.1	35	31	88.57	0.26	22.50
Scot20	50.0	66.6	24	23	95.83	0.32	15.30
Scot26	50.0	61.1	21	20	95.24	0.28	11.34
Scot21	50.0	61.1	14	13	92.86	0.26	7.98
Scot23	50.0	61.1	14	12	85.71	0.27	4.86
Scot27	50.0	61.1	20	19	95.00	0.30	13.43
Scot29	50.0	72.2	17	16	94.12	0.32	9.96
Scot30	50.0	72.2	23	22	95.65	0.26	14.84
Scot31	50.0	66.6	17	15	88.24	0.27	9.14
Total			229	211			
Ortalama/Primer			19.08	17.58	91.8	0.28	11.05

Tm: bağlanma sıcaklığı; GC: guanin/sitozin oranı; TB: toplam bantlar; PB: polimorfik bantlar; PIC: polimorfizm bilgi içeriği; RP: çözme gücü

Tablo 4.3. SCoT yönteminde genetik çeşitlilik değerlendirmesi için bazı parametreler

Primer	Ne	H	I	HT
Scot3	1.42	0.26	0.41	0.25
Scot5	1.39	0.25	0.40	0.24
Scot8	1.46	0.25	0.44	0.29
Scot16	1.42	0.25	0.37	0.25
Scot20	1.53	0.31	0.47	0.09
Scot26	1.44	0.26	0.40	0.20
Scot21	1.44	0.27	0.40	0.24
Scot23	1.42	0.25	0.39	0.11
Scot27	1.48	0.29	0.44	0.17
Scot29	1.53	0.31	0.47	0.27
Scot30	1.40	0.25	0.40	0.18
Scot31	1.44	0.26	0.41	0.02
Ortalama	1.45	0.27	0.42	0.19

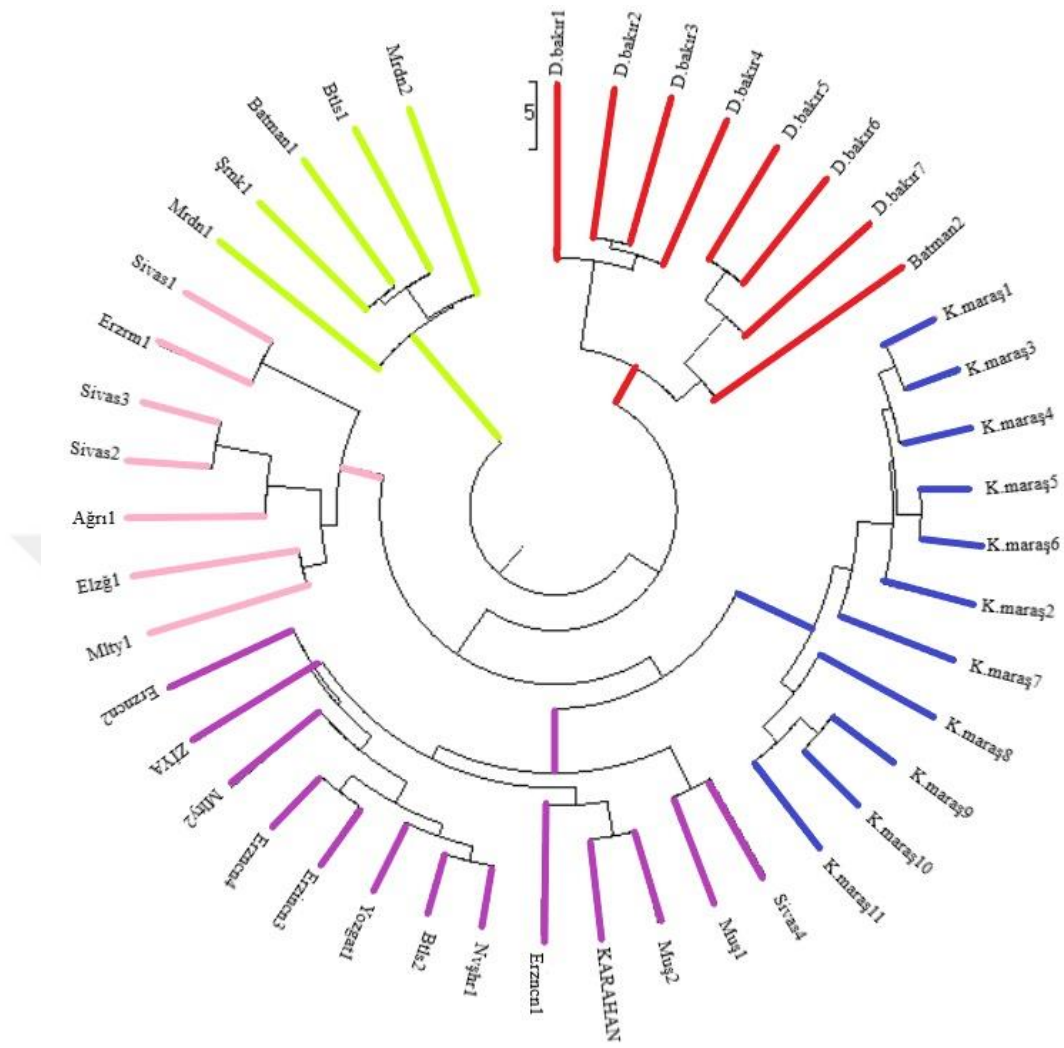
NE: Etkili alel sayısı, H: Genetik çeşitlilik, I: Shannon indeksi HT: Toplam genetik çeşitlilik
GM: Genetik Mesafe



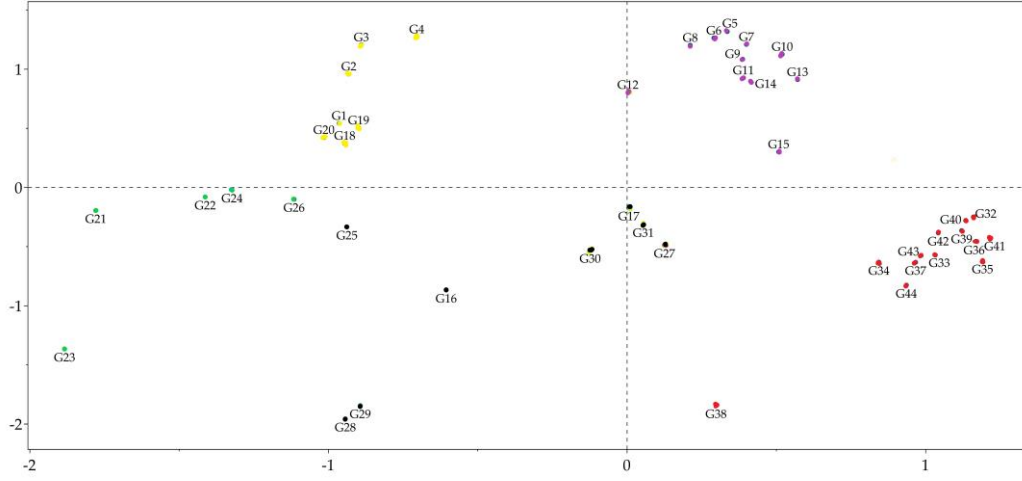
Şekil 4. 4. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte 12 SCoT primeri ile oluşan STRUCTURE kümeleme analizi ΔK grafiği

Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'de görüldüğü üzere 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşit ile yapılan çalışmada 5 ana grup oluşmuştur. İlk grupta 7 genotip, ikinci grupta 13 genotip, üçüncü grupta 8 genotip, dördüncü grupta 11 genotip ve beşinci grupta toplamda 5 genotip yer almaktadır. Analiz sonuçlarına bakılacak olursa; ilk populasyon Diyarbakır ilinden toplanmış olan genotipleri, ikinci populasyon Doğu Anadolu bölgesinden toplanmış olan genotipleri, üçüncü populasyon yine Doğu Anadolu bölgesi ve Sivas ilinden toplanmış olan genotipleri, dördüncü populasyon Kahramanmaraş ilinden toplanmış olan genotipleri ve beşinci populasyon Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanmış olan genotipleri temsil ederek birbirini desteklemektedir.

Genetik mesafe değerlerini belirleyebilmek için UPGMA kümeleme analizi ile 44 pelemir genotipinin soyağacı şeması oluşturulmuştur. Var (1), yok (0) yöntemine göre yapılan skorlama sonuçlarının Mega7 programı ile oluşturulan soyağacı şeması Şekil 4. 5. 'te verildiği gibidir.



Şekil 4. 5. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte SCOT markörleri ile yapılan çalışmanın soyağacı görüntüsü



Şekil 4. 6. 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşidin genetik mesafelerinin temel koordinat analizi (PCoA)

SCoT markörleri ile yapılan moleküler analiz çalışmaları sonucunda, genotipleri yakınlık derecelerine göre karşılaştırmak için, genetik mesafeleri ve temel koordinat düzlemindeki görüntülemesinin gösterildiği, PopGene programı kullanılarak AMOVA ve PCoA analiz görüntüleri Şekil 4. 5. ve Şekil 4. 6.' da verildiği gibidir. Elde edilen değerler incelendiğinde yüksek oranda genetik çeşitlilik gösteren genotipler Sivas, Malatya, Batman ve Bitlis illerinden toplanan genotipler olurken genetik çeşitliliğin en az olduğu genotipler ise Diyarbakır ve Kahramanmaraş illerinden toplanan genotipler olarak tespit edilmektedir.

5. TARTIŞMA

Pelemir (*Cephalaria syriaca*) bitkisinde daha önce SCoT markörleri kullanılarak yapılmış olan bir çalışma bilgisi bulunmamaktadır. SCoT yöntemi ile diğer bitkilerde yürütülmüş olan çalışmalar incelendiğinde; Luo vd. (2010)'in yürütmüş oldukları çalışmada 50 mango genotipinde 33 adet SCoT markörü ile toplamda 208 polimorfik bant ile %76.19 oranında polimorfizm tespit edilmiştir. Bu çalışmayla kıyaslandığında neredeyse 3 katı fazla primer kullanılmış ancak çok daha düşük bir polimorfizm oranı tespit edilmiştir. Bu çalışmada primer başına 19.08 bant edilirken, mango popülasyonu ile yapılan çalışmada primer başına 8.27 bant tespit edilerek, SCoT markörleri ile pelemir genotiplerinde çok daha yüksek verim elde edildiği görülmektedir. Zeng vd. (2014)'in 45 *Dactylis glomerata* bitkisinde 22 SCoT primeri ile yürütmüş oldukları çalışmada 277 bant elde ettiklerini ve 249 polimorfik bant ile %89.89 düzeyinde polimorfizm tespit ettiklerini bildirmektedirler. Bu çalışmaya oranla neredeyse 2 katı fazla primer kullanılan çalışmada polimorfizm oranı hemen hemen aynı değerlerde görülmüş ve yapılan UPGMA analizi sonucunda 5 ana grup elde edilmesi de yine bu çalışma ile benzer bir sonuç göstermektedir. Deng vd. (2015)' in Çin orijinli 95 *Diospyros* genotipinde genetik varyasyon ve akrabalık derecelerini tespit etmek için yaptıkları çalışmada SCoT primerlerinin ayırt etmede başarılı olduğunu, *Diospyros* genotiplerinde geniş bir genetik geçmiş ve zengin bir çeşitlilik bulunduğunu ve SCoT primerlerinin bu çeşitliliğin değerlendirilmesinde faydalı olduğunu bildirmişlerdir. Bhattacharyya vd. (2013)'nin Hindistan kökenli 60 yabancı orkide (*Dendrobium nobile*) materyalinde 16 SCoT primeri kullanarak yaptıkları çalışmada elde ettikleri %92.62 oranındaki polimorfizm seviyesi bu çalışmaya en yakın sonuçlardan biridir.

Yadav ve Malik (2016)'e göre Kuzey Hindistan kökenli 14 rezene genotipinde 35 SCoT markör kullanılarak yapılan çalışmada, skorlanabilir 256 bant elde edilmiş bunların 240'ı polimorfik bulunmuştur. Polimorfizm oranı %85-69 olarak bildirilirken primer başına bant adedi 7.0 olarak tespit edilmiştir. Polimorfizm oranı bu çalışmaya kıyasla daha düşük bulunmuştur. Primer başına düşen ortalama bant sayısı ise bu çalışmaya bakılacak olursa neredeyse 3 katı daha az bulunmuştur. Bunun sebebi, ilgili çalışmada bu çalışmaya kıyasla çok daha az

sayıda genotip ile çalışılmış olması ve dolayısıyla daha az varyasyona sahip olunması olarak düşünülebilir. Bhawna vd. (2017)'nin bu çalışmaya yakın bir sayı olarak 39 su kabağı genotipinde yapmış oldukları çalışmada 20 SCoT primeri kullanarak 161 skorlanabilir bant elde ettikleri ve %82.61 oranında polimorfizm elde ettikleri belirtilmiştir. Bu çalışmaya bakacak olursak yakın sayılarda genotip ile çok daha fazla primer kullanılmasına rağmen daha düşük bir polimorfizm oranı elde edildiği söylenebilir. Kobeissi vd. (2018)'nin 32 *Chrysanthemum morifolium* bitki çeşidinde 8 SCoT primeri ile genetik çeşitliliği araştırmak için yapmış oldukları çalışmada PIC değerini 0.34 olarak bildirmişlerdir. Belirtilen PIC değeri bu çalışma ile çok yakın bir değer çıkmıştır. Jalilian vd. (2018)'nin 30 *Pyrus* bitkisinde genetik varyasyon değerlendirmesi için 12 SCoT primeri ile yapmış oldukları çalışmada skorlanabilir 87 bant elde ettiklerini ve 78'inin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Toplam polimorfizm oranı %95.9 olarak hesaplanmış ve yine bu çalışmaya yakın değerlerden biri olarak kaydedilmiştir. Golkar ve Nourbakhsh (2019)'in 30 adet çörekotu genotipinde 12 SCoT primeri ile yaptıkları çalışmada toplam polimorfizm oranını %81.75 olarak bildirmişlerdir. STRUCTURE analizi sonuçlarında ise çörekotu genotipleri 4 ayrı grupta değerlendirilmiştir. İlgili araştırmada kullanılan primer sayısı bu çalışma ile aynı sayıdadır. Polimorfizm oranı ve UPGMA sonuçları açısından değerlendirildiğinde, polimorfizm oranının daha düşük bulunduğu ve kümeleme analizinde oluşan grup sayısının çok yakın değerde olduğu görülmektedir. Agarwal vd. (2019)'in yaptıkları çalışmada 29 gül çeşidinde 32 SCoT markörü ile genetik varyasyon araştırması yaparak toplamda 229 polimorfik bant elde ettiklerini ve %72.49 oranında polimorfizm tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Primer başına ise ortalama 9.34 bant elde ettiklerini ve PIC değerinin 0.79 olarak hesaplandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmayla kıyaslandığında polimorfizm oranı ve primer başına elde edilen ortalama bant sayısı çok daha düşük bulursa da PIC değeri bu çalışmaya göre daha yüksek hesaplanmıştır.

Huded vd. (2020)'in Hindistan gen bankasından elde ettikleri 58 *Coffea canephora* genotipi arasında genetik çeşitliliği belirlemek için yürütmüş oldukları çalışmaya bakacak olursak, toplamda 31 SCoT primeri kullanarak 507 skorlanabilir bant elde ettikleri ve bu bantlardan yalnızca 225 bandın polimorfik bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmaya kıyasla çok daha fazla bant elde etmelerine rağmen

polimorfik bant sayısı oldukça az bulunmuş ve dolayısıyla toplam polimorfizm oranı oldukça düşük olmuştur. İlgili çalışmaya göre SCoT primerlerinin, bu çalışmada 2 katı kadar daha verimli çalıştığı söylenebilir. *Coffea canephora* genotipinin de aralarında bulunduğu, Mishra vd. (2022)'in 20 farklı *Coffea* türünde yürütmüş oldukları bir başka çalışmaya da bakılacak olursa 36 SCoT primeri kullanılarak 368 bant elde edilmiş ve bu bantlardan yalnızca 192 bandın polimorfik olduğu ve %52.17 oranında polimorfizm elde edildiği belirtilmiştir. Birbirini destekleyen bu çalışmalara bakılarak SCoT primerlerinin pelemir genotiplerinde, *Coffea* genotiplerine göre daha fazla etkinlik gösterdiği söylenebilir.

Bu çalışmaya yakın değerlerde yürütülmüş olan bir başka çalışmaya bakacak olursak, Khodae vd. (2021)'in 48 *Aegilops triuncialis* genotipinde genetik çeşitliliği belirlemek için yürütmüş oldukları çalışmada, 14 SCoT primeri kullanarak %90.74 oranında polimorfizm elde ettikleri görülmektedir. Gupta vd. (2021)'in Hindistan'ın farklı bölgelerinden 36 *Ocimum* genotipinde 18 SCoT markörü ile yapmış oldukları çalışmada polimorfizm oranı %84.6, PIC değeri 0.65 ve Rp değeri 8.80 olarak elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre daha düşük polimorfizm elde edilmesine rağmen PIC değeri daha güçlü ve Rp değeri yine bu çalışmaya göre daha düşük bulunmuştur. Agarwal vd. 2019' in SCoT8 primerinde %23 dolaylarında polimorfizm elde etmesi ve diğer bazı araştırmacıların da (Kobeissi vd., 2018) SCoT8 primerini düşük polimorfizm göstermesi sebebiyle tercih etmemesine karşın bu çalışmada SCoT8 primeri %94.74 gibi bir değer ile oldukça yüksek etkinlik göstererek ilgili çalışmalara, karşı bir netice göstermiştir.

Bu çalışmada bulguları değerlendirecek olursak, polimorfizm oranı diğer çalışmalara göre ortalamadan fazla bir değer elde edilmiştir. Materyal olarak kullanılan pelemir genotipleri yabancı olup bizzat doğal ortamlarından toplanması sebebiyle, kısa mesafelerde dahi varyasyon göstermesi ve yüksek oranda polimorfizm elde edilmesi normaldir. Bhattacharyya vd. (2013)'in aynı şekilde Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanmış 60 yabancı orkide genotipinde tespit ettikleri %92.62 polimorfizm oranı, Yadav ve Malik (2016)' in Kuzey Hindistan kökenli farklı bölgelerden toplanan 14 *Foeniculum vulgare* genotipinde elde ettikleri %85.69 polimorfizm oranı, Bhawna vd. (2017)'in Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanmış olan 39 su kabağı genotipinde elde ettikleri %82.61

polimorfizm oranı ve Gölkar ve Mokhtari (2018)'in dünyanın farklı bölgelerinden 100 aspir genotipinde SCoT primerlerini kullanarak elde etmiş oldukları yüksek polimorfizm oranı, doğal ortamdaki varyasyonu ve bu çalışmayı destekler niteliktedir. Pelemir bitkisinde daha önce yapılmış olan moleküler bir çalışmaya literatür araştırmasında rastlanılmamıştır. Bitkimiz henüz yeni kültüre alınan bir bitki olup ilk çeşit tescil tarihi 2017 olarak kaydedilmiştir. Pelemir bitkisi ile ilgili moleküler ve genel anlamda yapılmış olan en geniş kapsamlı genetik çeşitlilik belirleme çalışmasıdır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, yüksek polimorfizm gösteren SCoT markör yöntemi kullanılarak, Türkiye doğal florasından toplanmış olan 42 pelemir genotipi ve 2 tescilli çeşitte genetik yakınlık-uzaklık ilişkilerini belirleme üzerine odaklanılmıştır. Önceki kısımlarda da belirtildiği gibi pelemir bitkisinde daha önce moleküler alanda yapılan bir çalışma tespit edilmemiştir. Türkiye'nin pelemir genotipleri üzerine yapılmış olan bu ilk ve kapsamlı genetik çeşitlilik çalışması ıslahçılara oldukça fayda sağlayacaktır.

Moleküler çalışmalar sonucu deneme yapılan 36 SCoT primerinden, en güçlü ve polimorfik bulunan 12 SCoT primeri (SCoT3, SCoT5, SCoT8, SCoT16, SCoT20, SCoT21, SCoT23, SCoT26, SCoT27, SCoT29, SCot30 ve SCoT31) seçilmiş ve çalışmaya alınmıştır. Yapılmış olan görüntülemeler sonucunda pelemir bitkisinde genetik varyasyon belirlemek için, seçilmiş olan primerlerin uygun olduğu söylenebilir.

Türkiye doğal florasından toplanmış olan pelemir genotiplerinin moleküler karakterizasyonu ve ıslah materyalinde kullanılacak genotiplerin belirlenmesi için yürütülmüş olan bu çalışmada, SCoT primerleri ortalama %91.8 oranında polimorfizm ile yüksek etkinlik göstermiştir. Nei (1978)' göre genetik uzaklıklara bakılacak olursa, 0.0866 genetik uzaklığı ile birbirine en yakın iki genotip G47(Kahramanmaraş1) ve G49 (Kahramanmaraş3) genotipleri ve 0.6630 genetik uzaklığı ile birbirine en uzak iki genotip G84 (Muş1) ve G67 (Mardin2) genotipleri olarak hesaplanmıştır. Islah materyali olarak, varyasyon oluşturması açısından birbirine en uzak bulunan genotiplerinin kullanılması, DNA analizleri yapılarak tüm yerel genotiplerin türüne özgü DNA parmak izi alınarak kayıt altında tutulması, Pelemir materyallerinden edinilen DNA örnekleri ile SNP'ler elde edilmesi ve Sekanslamayla Genotipleme (GBS) programlarıyla da SNP arayışlarının sürdürülmesi, Bunların yanında, pelemir ıslah programlarında ileri zamanlı kaynak oluşturacak pelemir gen haritalarının oluşturulması da önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında APA atf sistemi kullanılmıştır:

- Agarwal, A., Gupta, V., Haq, S. U., Jatav, P.K., Kothari, S. L. & Kachhwaha, S. (2019). Assessment of genetik diversity in 29 rose germplasms using SCoT marker. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 780-788.
- Akbari, A., Darbandi A. I. & Ramshini, H. (2022). Application of SCoT Marker to Discriminate Genotypes and Synthetic Cultivars of Fennel (*Foeniculum Vulgare* Mill.), 25 January, *Preprint available at Research Square*, (1). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1231888/v1>
- Ali, F., Yılmaz, A., Chaudhary, H. J., Azhar, M., Nadeem, M. A. R., Arslan, Y., ... & Baloch, F. S. (2019). Investigation of Morpho-Agronomic Performance and Selection Indices in the International Safflower Panel for Breeding Perspectives”, 2. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43.
- Arslan, Y., Subaşı, I., Kodaş, R. & Katar, D. (2014). Effect of different doses of nitrogen and phosphorus on the yield and yield components of cephalaria (*Cephalaria syriaca* L.) in dry condition. *Ziraat Fakültesi Dergisi, Süleyman Demirel Üniversitesi*, 9(2), 33-41.
- Arslan, Y., Subaşı, İ., Kodaş, R., & Katar, D. (2014). Farklı Azot ve Fosfor Seviyelerinin Kuru Şartlarda Yetiştirilen Peleminir *Cephalaria syriaca* L. Bitkisinin Verim ve Verim Özellikleri Üzerine Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(2), 33–41.
- Arslan, Y., Subaşı, İ., Yaşar, M. & İşler, B. (2022). Stratejik Sektör: Tarım. *İksad yayınevi*. (1), 357-377.
- Aksoy, N., Göktürk, R. S., Açık, L. & Çelebi, A. (2007). *Cephalaria duzceënsis* (Dipsacaceae), a new species from the western Black Sea Region. *Turkey. Nordic J Bot.* (25), 64–69.
- Baloch, F. S., Kurt, C., Arioğlu, H. H., & Özkan, H. (2010). “Assaying of diversity among soybean (*Glycin max* (L.) Merr.) and peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes at DNA level”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34(4), 285-301.
- Baloch, F. S., Alsaleh, A., Andeden, E. E., Hatipoğlu, R., Nachit, M. & Özkan, H. (2016). High levels of segregation distortion in the molecular linkage map of bread wheat representing the West Asia and North Africa region. *Turk J Agric For*, (40), 352–364.
- Baloch, F. S., Alsaleh, A., Shahid, M. Q., Çiftçi, V., de Miera, L. E. S., Aasim, M., ... & Hatipoğlu, R. (2017). A whole genome DArTseq and SNP analysis for genetik diversity assessment in durum wheat from central fertile crescent. *PLoS one*, 12(1), e0167821.
- Başar, Ş., Karaoğlu, M. M & Boz, H. (2016). The effects of *Cephalaria syriaca* flour on the quality of sunn pest (*Eurygaster integriceps*)- damaged wheat. *Journal of Food Quality*, 39, (13-24), 1472-1477.
- Baytop, T. (1999).“Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi”, 313s, İstanbul.
- Bhattacharyya, P., Kumaria, S., Kumar, S. & Tandon, P. (2013). Start Codon Targeted (SCoT) marker reveals genetik diversity of *Dendrobium nobile* Lindl., an endangered medicinal orchid species. *Gene*, 529(1), 21-26.
- Bhawna, Abdin, M. Z., Arya, L. & Verma, M. (2017). Use of SCoT markers to assess the gene flow and population structure among two different populations of bottle gourd. *Plant gene*, (9), 80-86 doi.org/10.1016/j.plgene.2016.09.001
- Buer, H., Rula, S., & Wang, Z. Y. (2022). Analysis of genetik diversity in *Prunus sibirica* L. in inner Mongolia using SCoT molecular markers. *Genet Resour Crop Evol*, (69), 1057–1068

<https://doi.org/10.1007/s10722-021-01284-4>

- Collard, B. C. & Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences*, 363(1491), 557-572.
- Collard, B. C. Y., & Mackill, D. J. (2009). Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Mol Biol Rep*, (27), 86–93. <https://doi.org/10.1007/s11105-008-0060-5>
- Çağlar, H. (1968). “Pelemir El Kitabı”, *Güven Matbaa*, 9-12.
- Davis P. H., Mill, R. R., & Tan, K. (1988). *Cephalaria* Schrad. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh, UK: *Edinburgh University Press*, 1(10), 156.
- Deng, L., Liang, Q., He, X., Luo, C., Chen, H. & Qin, Z. (2015). Investigation and analysis of genetik diversity of diospyros germplasms using SCoT molecular markers in Guangxi. *PloS one*, 10(8), 0136510.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Duman, E. (2023). Rafine işleminden sonra *Cephalaria syriaca* L. tohum yağının kalite parametrelerindeki değişimler. *Grasas Y Asitler*, 74 (1), e488. <https://doi.org/10.3989/gya.1123212>
- Etminan, A., Pour-Aboughadareh, A., Noori, A., Ahmadi-Rad, A., Shooshtari, L., Mahdavian, Z., & Yousefiazar-Khanian, M. (2018). Genetik relationships and diversity among wild *Salvia* accessions revealed by ISSR and SCoT markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(3), 610-617.
- Feng, S., Zhu, Y., Yu, C., Jiao, K., Jiang, M., Lu J., & Wang, H. (2018). Development of species-specific SCAR markers, based on a SCoT analysis, to authenticate *Physalis*
- Göktürk, R. S. & Sümbül, H. (1997). A new species of *Cephalaria* (*Dipsacaceae*) from South Anatolia, Turkey. *Ann Bot Fenn*, 34, 153–155.
- Göktürk, R. S., Sümbül, H. & Açıık, L., (2003). A new species of *Cephalaria* Schrad. ex Roem. & Schult. (*Dipsacaceae*), including a new variety from East Anatolia, Turkey. *Israel J Pl Sci*, (51), 59–65.
- Göktürk, R. S. & Sümbül, H. (2003). *Cephalaria aytachii* (*Dipsacaceae*), a new species from Central Anatolia, Turkey. *Ann Bot Fenn*, (40), 123–127.
- Göktürk, R. S., Sümbül, H., Çelebi, A. & Açıık, L. (2012). Two new species of *Cephalaria* (*Caprifoliaceae*) from Turkey. *Turk J Bot.*, (36), 311–321.
- Göktürk, R. S., & Sümbül, H. (2014). A taxonomic revision of the genus *Cephalaria* (*Caprifoliaceae*) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 38(5), 927-968.
- Gupta, P., Mishra, A., & Lal, R. K. (2021). DNA Fingerprinting and Genetik Relationships Similarities Among the Accessions/Species of *Ocimum* Using SCoT and ISSR Markers System. *Mol Biotechnol*, 63, 446–457 <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00316-9>
- Ghobadi, G., Etminan, A., & Mehrabi, A. M. (2021). Molecular diversity analysis in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) and two *Aegilops* species (*Aegilops crassa* and *Aegilops cylindrica*) using CBDP and SCoT markers. *J Genet Eng Biotechnol*, (19), 56. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00157-8>
- Golkar, P. & Mokhtari, N. (2018). Molecular diversity assessment of a world collection of safflower genotypes by SRAP and SCoT molecular markers. *Physiol Mol Biol Plants*, (24), 1261–1271 <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0545-0>
- Hajibarat, Z., Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2015). Characterization of genetik diversity in chickpea

using SSR markers, Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and Conserved DNA-Derived Polymorphism (CDDP). *Physiol Mol Biol Plants*, (21), 365–373 <https://doi.org/10.1007/s12298-015-0306-2>

- Huded, A. K. C., Jingade, P., Bychappa, M., & Mishra, M. K. (2020). Genetic diversity and population structure analysis of coffee (*Coffea canephora*) germplasm collections in Indian Gene Bank employing SRAP and SCoT markers. *International Journal of Fruit Science*, 20(2), 757-784.
- Igwe, D. O., Ihearahu, O. C. & Osano, A. A. (2022). Assessment of genetic diversity of *Musa* species accessions with variable genomes using ISSR and SCoT markers. *Genet Resour Crop Evol*, (60), 49–70 <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01202-8>
- Jalilian, H., Zarei, A. & Erfani-Moghadam, J. (2018). Phylogeny relationship among commercial and wild pear species based on morphological characteristics and SCoT molecular markers. *Scientia horticultrae*, 235, 323-333.
- Karaoğlu, M. M., (2006). *Cephalaria syriaca* addition to wheat flour dough and effect on rheological properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(2), 37–46.
- Karaoğlu, M. M., (2011). Influence of *Cephalaria syriaca* Addition on Physical and Sensorial Properties of Wheat Bran Bread. *International Journal of Food Properties*, (14), 124–133.
- Kavak, C., & Baştürk, A. (2020). Antioxidant activity, volatile compounds and fatty acid compositions of *Cephalaria syriaca* seeds obtained from different regions in Turkey. *Grasas y Aceites*, 71(4), 379-379.
- Katar, D., Arslan, Y., Kayaçetin, F., Bayramin, S., & Karahan, Y. (2011). Ankara ekolojik koşullarında farklı sıra aralıklarının pelemir bitkisi (*Cephalaria cyriaca* (sirjaca) L.)’nin verim ve verim unsurları üzerine etkisinin belirlenmesi *I. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı*, Eskişehir.
- Katar, D., Arslan, Y., Subasi, I., & Kudas, R. (2012). The effect of different sowing dates on yield and yield components of *Cephalaria* (*Cephalaria syriaca*) under Ankara/Turkey ecological condition. *Biological Diversity and Conservation*, 5(3), 48-53.
- Kaya, G., Kaya, M. D., Çalışkan, M. & Arslan, Y. (2009). Comparative analysis for germination and seedling growth of wheat with some competitive weeds under salinit. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. (7)3-4, 534-536.
- Karaca, M., İnce, A. G., Elmasulu, S. Y., Onus, A. N. & Turgut, K. (2005). Coisolation of genomic and organelle DNAs from 15 genera and 31 species of plants. *Analytical biochemistry*, 343(2), 353-355.
- Karagöz, H., Hosseinpour, A. & Karagöz, F. P. (2022). Dissection of genetic diversity and population structure in oregano (*Origanum acutidens* L.) genotypes based on agromorphological properties and start codon targeted (SCoT) markers. *Biologia*, (77), 1231–1247. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00989-2>
- Kobeissi, B., Saidi, A., Kobeissi, A. & Shafie, M. (2018). Applicability of SCoT and SSR Molecular Markers for Genetic Diversity Analysis in *Chrysanthemum morifolium* Genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 1-11.
- Khang, N. H. M., Quang, N. T. & Mai, H. N. X. (2022). Genetic characterization of coconut (*Cocos nucifera* L.) varieties conserved in Vietnam through SCoT marker-based polymorphisms. *Genet Resour Crop Evol*, (69), 385–398 <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01237-x>
- Khodae, L., Azizinezhad, R., & Etminan, A.R. (2021). Assessment of genetic diversity among Iranian *Aegilops triuncialis* accessions using ISSR, SCoT, and CBDP markers. *J Genet Eng Biotechnol*, (19), 5. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00107-w>

- Kuş, S. & Göktürk, R. S. (2005). A new *Cephalaria* (Dipsacaceae) species from the European part of Turkey. *Nordic J Bot*, (23), 427–430.
- Luo, C., He, X. H., Chen, H., Ou, S. J. & Gao, M. P. (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(6), 1176-1184.
- Mahjbi, A., Baraket, G., Oueslati, A., & Salhi-Hannachi, A. (2015). Start Codon Targeted (SCoT) markers provide new insights into the genetik diversity analysis and characterization of Tunisian citrus species. *Biochemical Systematics and Ecology*, (61), 390-398.
- Matthews, V. A., (1972). *Cephalaria* Schrad. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Edinburgh, UK: Edinburgh University Press*, (4), 585–597.
- Mishra, M. K., Huded, A. K. C., Jingade, P., & Bychappa, M. (2022). Molecular characterization and genetik structure analysis of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* cultivars from India using SCoT markers. *Ecological Genetiks and Genomics*, (23), 100117.
- Nadeem, M. A., Habyarimana, E. & Çiftçi, V. (2018). Characterization of genetik diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. *PLoS ONE*, 13(10), e0205363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205363>
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetik distance from a small number of individuals. *Genetiks*, 89(3), 583-590.
- Öğüt, H., Oğuz, H., Bacak, S., Aydın, F., Uygun, S., Arslan, Y., & Subaşı, İ. (2014). Pelemir biyodizelinin teknik özelliklerinin incelenmesi. *Enerji Tarımı ve Biyoyakıtlar*, 4, 28-29.
- Pakseresht, F., Talebi, & R., Karami, E. (2013). Comparative assessment of ISSR, DAMD and SCoT markers for evaluation of genetik diversity and conservation of landrace chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes collected from north-west of Iran. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(4), 563-574.
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., & De Loose, M. A. F. L. P. (2000). AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium spp.*). *Molecular breeding*, 6, 125-134.
- Parolly, G. & Eren, Ö. (2007). Contributions to the flora of Turkey, 2. *Willdenowia*, (37), 243–271.
- PETDER. (2023). Petrol Sanayi Derneği. <http://www.petder.org.tr>.
- Rathore, N. S., Rai, M. K., Phulwaria, M., Rathore, N. & Shekhawat, N. S. (2014). Genetik stability in micropropagated *Cleome gynandra* revealed by SCoT analysis. *Acta physiologiae plantarum*, 36(2), 555-559.
- Sankar, V., Dhanarajan, A., Gurunathan, S., & Elangovan, D. (2022). 60Co gamma ray induced mutants of cowpea and assessment of genetik variability by SCoT marker. *Plant Science Today*, 9(3), 672–680. <https://doi.org/10.14719/pst.1623>
- Sezgin, M., Tezcan, H., Şahin, M., Arslan, Y., Subaşı, İ., Demir, İ. & Koç, H. (2017). Bazı Pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) Çeşitlerinin Türkiye'nin Farklı Ekolojik Koşullarında Verim ve Kalite Değerlerinin Belirlenmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20, 192-195
- Sevindik, E., Özbent, S. & Sofyalioğlu, E. (2022). Genetik Relationship Analysis of Some *Elaeagnus angustifolia* L. Populations Grown in Izmir, Türkiye, Using SCoT Markers. *Erwerbs-Obstbau*. <https://doi.org/10.1007/s10341-022-00782-8>
- Sümbül, H. (1991). Ten new species from Anatolia and two new records for the flora of Turkey. *Edinburgh J Bot.*, 48, 27–40.
- Sıralı, R. & Deveci, M. (2002). “Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) İçin Önemli Olan Bitkilerin Trakya Bölgesinde İncelenmesi”. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 2(1), 17-26

- Szabó, Z. (1940). *Cephalaria-genusz monografiája*. Budapest, Hungary: *Kiadja A Magyar Tudományos Akademia Press*, Hungarian.
- Subaşı, İ., Arslan, Y., Aydın, O., Baloch, F., Çamlıca, M., & Çiftçi, V. (2021). Pelemir (*Cephalaria syriaca* L.) Bitkisinin Bazı Bitkisel Özelliklerinin ve Tohum Yağı Kompozisyonlarının Belirlenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(1), 90-95.
- TTSM. (2017). Türkiye Tarım ve Orman Bakanlığı Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Müdürlüğü. Milli çeşit listesi. <https://www.tarimorman.gov.tr>. (Son Erişim tarihi: 20 Mayıs 2023).
- TÜİK. (2023). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel üretim istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr>. (Son Erişim tarihi: 20 Mayıs 2023).
- Türkiye Gıda ve İçecek Sanayi Dernekleri Federasyonu. (2022). <https://www.tgdf.org.tr>. (Son Erişim tarihi: 20 Mayıs 2023).
- Xia, P., Guo, H., Zhang, Y., Deyholos, M. K., Peng, L., Jia, Y., Yan, X., Liu, Y., & Liang, Z. (2016). Wild *Panax vietnamensis* and *Panax stipuleanatus* markedly increase the genetic diversity of *Panax notoginseng* (Araliaceae) revealed by start codon targeted (SCoT) markers and ITS DNA barcode. *Biochemical Systematics and Ecology*, 66, 37-42.
- Yadav, C. & Malik, C. P. (2016). Molecular Characterization of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Journal of Plant Science Research*, 32(1).
- Yaman, H., Tarıkahya-Hacıoğlu, B., Arslan, Y., & Subaşı, İ. (2014). "Molecular characterization of the wild relatives of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in Turkey as revealed by ISSRs", *Genetik resources and crop evolution*, 61(3), 595-602.
- Yazıcıoğlu, T., Karaali, A., & Gökçen, J. (1978). f tohumu yağı. *American Oil Chemists' Society Dergisi*, 55(4), 412-415.
- Yeken, M. Z., Emirlioğlu, O., Çiftçi, V., Bayraktar, H., Palacioğlu, G., & Özer, G. (2022). Analysis of genetic diversity among common bean germplasm by start codon targeted (SCoT) markers. *Molecular Biology Reports*, 49(5), 3839-3847.
- Yilmaz, A. & Ciftci, V. (2021). Genetic relationships and diversity analysis in Turkish laurel (*Laurus nobilis* L.) germplasm using ISSR and SCoT markers. *Mol Biol Rep*, (48), 4537–4547 <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06474-y>
- Zeng, B., Zhang, Y., Huang, L., Jiang, X. M., Luo, D. & Yin, G. (2014). Genetic diversity of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) germplasms with resistance to rust diseases revealed by Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 96-102.
- Zhang, X., Bai, L., & Esfandani-Bozchaloyi, S. (2022). Population Differentiation and Gene Flow of *Salicornia persica* Akhani (Chenopodiaceae). *Caryologia*, 75(2), 33-43.