

Kekik (*Origanum vulgare* L.) Genik SSR (Basit Dizi Tekrarı) Markörlerinin Transkriptoma Dayalı Geliştirilmesi

Fatıma CEYLAN¹  Ali Tevfik UNCU^{2*}  Ayşe Özgür UNCU^{3*} 

¹ Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, SARGEM Araştırma Merkezi, Konya, Türkiye

² Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya, Türkiye

³ Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya, Türkiye

Makale Bilgisi

Geliş Tarihi: 10.12.2024

Kabul Tarihi: 19.03.2025

Yayın Tarihi: 30.06.2025

Anahtar Kelimeler:

De novo transkriptom

birleştirme,

DNA markör,

Mikrosatelit.

ÖZET

Yeni nesil sekanslama teknolojileri ve biyoinformatik alanlarında gerçekleştirilen gelişmeler, günümüzde sekans spesifik DNA markörlerinin yüksek veri çıkışlı analizler ile tüm genom/transkriptom düzeyinde geliştirilmesine olanak vermektedir. Son 10 yıllık süreçte yeni nesil sekanslama platformları ve sekans analiz yöntemlerinin çeşitlenmesi, RAPD (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA), ISSR (basit dizi tekrarlar arası) gibi sekans bilgisine dayanmayan, jenerik DNA markörlerine başvurmayı gereksiz kılmakta, bu tip markörler yerine yüksek tekrar edilebilirlikte sonuç üreten sekans spesifik markörler bitki moleküler genetiği uygulamaları için kullanışlı genomik araçlar olarak etkin şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, 'kekik' adı ile bilinen başlıca tıbbi ve aromatik bitki türlerinden olan *Origanum vulgare* L. genomuna özel genik SSR (basit dizi tekrar) markörlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. *Origanum* cinsi iyi bilinen tıbbi ve aromatik bitkileri içinde barındırmakla birlikte, bugüne kadar *Origanum* cinsine özel geliştirilmiş genom-spesifik markör sayısı yalnızca 33 adettir. Bu çalışma kapsamında, Türkiye'nin önemli bir gen merkezi olduğu *Origanum* cinsinin dünya genelinde yaygın olarak bilinen türleri arasında yer alan *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* transkriptomu, de novo transkriptom birleştirme yöntemi ile analiz edilerek birleştirilmiş transkriptom elde edilmiş ve transkriptom sekansı trinitükleotid SSR lokusları için taranmıştır. Elde edilen lokusların, yüksek GC içeriği ile kodlayan bölgelerde sık rastlanan tipte basit dizi tekrarları olduğu görülmüştür. Transkriptoma dayalı geliştirilen DNA markörleri, genomik markörlere kıyasla daha yüksek korunmuşluk düzeyi göstermekle birlikte, transkript edilen bölgelerdeki polimorfizmlerin fenotip ilişkilendirme analizleri için elverişlilikleri yüksektir. Bu çalışma kapsamında kekik transkriptomunda belirlenen SSR lokusları üzerinden yüksek veri çıkışlı markör dizaynı işlemi gerçekleştirilerek 1731 adet sekans-spesifik genik SSR markörü geliştirilmiştir. Açık okuma çerçevesinde veya 5'/3' UTR bölgelerde (translasyona uğramayan bölge) lokalize SSR polimorfizmlerinin kodlanan amino asit dizisini veya protein katlanmasını ve gen ekspresyon düzeyini etkileme potansiyelleri yüksek olduğundan, bu markörler *Origanum* cinsi için bir genom-spesifik aday fonksiyonel markör seti oluşturmaktadır.

Development of Genic SSR (Simple Sequence Repeat) Markers Based on an *Oregano* (*Origanum vulgare* L.) Transcriptome Assembly

Article Info

Received: 10.12.2024

Accepted: 19.03.2025

Published: 30.06.2025

Keywords:

De novo transcriptome

assembly,

DNA marker,

Microsatellite.

ABSTRACT

Developments in next generation sequencing technologies and bioinformatic analyses enable the identification of sequence specific DNA markers at the whole genome/transcriptome level. During the last decade, diversification of the next generation sequencing platforms as well as the associated sequence analysis algorithms have made generic marker systems such as RAPD (random amplified polymorphic DNA) and ISSR (inter simple sequence repeat) almost obsolete and sequence specific markers constitute useful genomic tools for applications in plant molecular genetics. The aim of the present work was to develop genic SSR (simple sequence repeat) markers specific for the well-known medicinal and aromatic herb, oregano (*Origanum vulgare* L.). Although the *Origanum* genus hosts widely-recognized medicinal and aromatic species, only 33 genome-specific markers have been developed to date for the genus. In the course of the present work, the transcriptome sequence of *O. vulgare* L. ssp. *vulgare*, one of the most widely known members of the *Origanum* genus, was assembled via a de novo transcriptome assembly approach. The assembly was scanned for the identification of trinucleotide SSRs. GC rich loci were found to be the most abundant simple sequence repeats, which is indeed characteristic for coding sequences. While genic SSRs are more conserved compared to genomic SSRs, markers that represent transcribed loci are more likely to be useful for trait association studies. In the course of the present work, the loci identified in the transcriptome sequences were used in the high-throughput marker development process, yielding a total of 1731 sequence-specific genic SSR markers. Since SSR polymorphisms located in open reading frames and 5'/3' UTR (untranslated region) carry the potential to affect the amino acid sequence or protein folding and the level of gene expression, the markers introduced in the present work constitute a genome-specific set of candidate functional markers.

Bu makaleye atıfta bulunmak için:

Ceylan, F., & Uncu, A. T., & Özgür Uncu, A. (2025). Kekik (*origanum vulgare* l.) genik ssr (basit dizi tekrarı) markörlerinin transkriptoma dayalı geliştirilmesi. *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 5(1), <https://doi.org/10.54498/ETBD.2025.37>

*Sorumlu Yazar: Ayşe Özgür Uncu, auncu@erbakan.edu.tr



This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0)

GİRİŞ

‘Kekik’ adı ile bilinen başlıca tıbbi ve aromatik bitki türlerinden olan *Origanum vulgare* L. ($2n = 2x = 30$), antik çağlardan beri baharat olarak ve yanı sıra çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Alekseeva ve ark., 2020). *Origanum* türleri, esansiyel yağ içeriklerinde bulunan sekonder metabolitler sebebi ile antienflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antidiabetik, vb. pek çok farklı biyolojik aktivite göstermektedir. Türkiye’nin de içinde yer aldığı Akdeniz coğrafyasında yayılım gösteren *Origanum* türlerinin %65’i (23 tür) ülkemizde endemiktir ve dolayısı ile Türkiye *Origanum* cinsi için bir gen merkezidir (Bozdemir, 2019). *O. vulgare* L. ssp. *vulgare*, *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* ve *O. majorana* L., dünya genelinde en çok bilinen başlıca *Origanum* türleridir (Alekseeva ve ark., 2023).

Doğal veya kültüre alınmış bitki popülasyonları geleneksel olarak fenotipik ve duyuşal özelliklere dayalı olarak tanımlanmakta ve karakterize edilmektedir (Cartea ve ark., 2003; Santos ve ark., 2012; Martínez ve ark., 2017; Dal ve Türkmen, 2022). Ancak morfolojik ve duyuşal özellikler, subjektif olabildikleri gibi, çevre ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak karakter ekspresyonu plastisite de göstermektedir. Ayrıca genotipik sınıflandırmayı mümkün kılacak, ölçülebilir düzeyde fenotipik varyasyon mevcut olmayabilir (Alekseeva ve ark., 2020). Dolayısı ile gerek kültüre alınmış türlerde gerekse doğal popülasyonlarda genotip düzeyinde tanımlama, sınıflandırma, önemli zirai özelliklerin karakterizasyonu ve gen havuzlarında mevcut genetik çeşitliliği belirleme çalışmalarında moleküler genetik analizlerin kullanımı öne çıkmaktadır (Uncu ve ark., 2015; Islam ve Blair, 2018; Jasrotia ve ark., 2019; Allam ve ark., 2022; Yeo ve ark., 2023; Karcı ve Kafkas, 2024). SSR (simple sequence repeat/basit dizi tekrarı) sekans-spesifik bir markör sistemi olup, SSR lokusları teoride sınırsız sayıda potansiyel alel barındırabilir ve SSR markörleri ile heterozigot genotipler tespit edilebilir. Bu özelliklerinden dolayı SSR markör sistemi bitki moleküler genetiği çalışmaları için oldukça avantajlıdır. Dolayısı ile bu markör sistemi genetik çeşitliliğin belirlenmesi, popülasyon yapısının belirlenmesi, moleküler ıslah programları kapsamında hastalıklara dayanıklı/duyarlı genotiplerin tespit edilmesi, germplazm koleksiyonlarının zirai öneme sahip çeşitli karakterler bakımından genotip düzeyinde karakterizasyonu ve tüm genom/gen/QTL (quantitative trait locus/kantitatif karakter lokus) haritalama çalışmalarında çok çeşitli bitki türünde başarı ile kullanılmaktadır (Bhagya ve ark., 2020; Çetin ve ark., 2021; Shukla ve ark., 2021; Sa ve ark., 2023; Yeo ve ark., 2023).

O. vulgare’de gerçekleştirilmiş moleküler genetik çalışmaların sayısı esasen kısıtlı olup, bu çalışmaların önemli bölümünde tür-spesifik olmayan, ‘jenerik’ markör sistemleri kullanılmıştır (Katsiotis ve ark., 2009; Azizi ve ark., 2009; Jedrzejczyk, 2018). Jenerik DNA markörlerinin temel kısıtlayıcı yönü, tekrar edilebilirliktir. Şöyle ki, sekans-spesifik olmayan markör sistemleri analiz koşullarından yüksek seviyede etkilendiklerinden aynı genotiplerin analizi neticesinde farklı sonuçlar üretebilmektedir. *O. vulgare*’de tür-spesifik DNA markörlerinin geliştirilmesi, ilk kez 2008 yılında rapor edilmiş olup (Novak ve ark., 2008), çalışma kapsamında 13 adet SSR markörü tanıtılmıştır. *Origanum* genotiplerinin SSR markörleri ile moleküler genetik karakterizasyonunu rapor eden çalışmalarda Novak ve ark. (2008) tarafından tanıtılmış olan markör seti kullanılmıştır (Helsen ve ark., 2013; Mechergui ve ark., 2017; Alekseeva ve ark., 2020). Alekseeva ve ark. (2023), yakın zamanda *O. vulgare* genomuna özel 20 adet SSR markörü geliştirmişlerdir. Sonuç olarak *Origanum* cinsinde geliştirilmiş genom-spesifik markör sayısı 33 adettir. Dolayısı ile bu markörlerin tamamının kullanımı ile dahi elde edilebilmesi mümkün olan genom kapsayıcılığı oldukça düşüktür. Yeni nesil sekanslama teknolojileri ve biyoinformatik biliminin günümüzde sağladığı olanaklar, çalışılmakta olan canlı türünde yüksek sayıda genomik veri noktasından bilgi üretebilecek moleküler markörlerin geliştirilmesine olanak vermektedir. Bu çalışma kapsamında *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* transkriptomu üzerinde biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiş ve bu analizler sonucunda *O. vulgare*’ye özel 1731 adet sekans-spesifik SSR markörü geliştirilmiştir. Çalışma kapsamında rapor edilen markörler, önemli bir tıbbi ve aromatik bitki olan kekikte, üstün özelliklere sahip ‘genotiplerin’ belirlenmesi ve detaylı

moleküler genetik karakterizasyon çalışmaları için gerekli moleküler araçları oluşturacaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

***O. vulgare* RNA Sekans Verisi ve Ham Veri Analizi**

O. vulgare yaprak transkriptom ham verisine GenBank veritabanından erişilmiştir (BioProject: PRJNA780386). RNA-seq ham verisinin kayıp data, okuma uzunluğu ve Q30 Phred skoruna göre temizlenme işlemi Trimmomatic (flexible read trimming tool for Illumina NGS data) (Bolger ve ark., 2014) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Transkriptom Birleştirme ve Markör Geliştirme Analizleri

Transkriptom birleştirme işlemi (assembly) rnaSPAdes (Bushmanova ve ark., 2019) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Assembly gen bütünlüğü ve kalitesi BUSCO (benchmarking universal single-copy orthologs) (Simão ve ark., 2015) analizi ile belirlenmiştir. Konsensüs transkriptler birleştirilmiş sekanslardan cd-hit (Li ve Godzik., 2006) yazılımı ile oluşturulmuş, TransDecoder (Haas ve ark., 2013) yazılımı ile en uzun potansiyel bütünlükte ORF (open reading frame/açık okuma çerçevesi) sekans verileri ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen konsensüs transkript sekansları GMATA (Genome-wide microsatellite analyzing tool Package) (Wang ve Wang, 2016) yazılımının ‘SSR identification’ modülü kullanılarak trinükleotit SSR’lar için analiz edilmiştir. SSR tarama parametreleri olarak minimum ve maksimum motif uzunluğu için 3, minimum tekrar sayısı için 5 kullanılmıştır. Transkriptom verisinin tamamında high-throughput markör geliştirme analizi için GMATA yazılımının ‘marker designing’ modülü kullanılmıştır. Markör dizayn parametreleri şu şekilde uygulanmıştır: Minimum ampikon uzunluğu: 100 bp, Maksimum ampikon uzunluğu: 300 bp, optimum Tm: 60 °C.

BULGULAR VE TARTIŞMA

O. vulgare yaprak transkriptom verisinin birleştirilmesi sonucunda 58,015 adet transkriptten oluşan bir transkriptom assembly elde edilmiştir. Birleştirilmiş transkriptomun kalite analizleri, referans tek kopya ortolog gen kütüphanesi olarak 1614 adet genden oluşan BUSCO seti embryophyta_odb10’nin kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. BUSCO bütünlüğü gerek birleştirilmiş genomlarda, gerekse transkriptomlarda önemli bir temel kalite kriteridir ve birleştirilmiş transkriptomların gen içeriğini temsil etmesinin ölçütüdür. Analiz sonucunda birleştirilmiş transkriptomun BUSCO bütünlüğü %91.3 olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Elde edilen sonuçlara göre yaprak transkriptomunun tüm *O. vulgare* transkriptlerinin %90’ından fazlasını temsil ettiği görülmektedir. Tespit edilen 1474 adet tüm BUSCO’nun (complete BUSCO) 830 adedi (%51.4) tek kopya, 644 adedi (%39.9) çoklu kopya halindedir (Şekil 1). Transkriptom verilerinde genom BUSCO analiz sonuçlarından farklı olarak ortologların yüksek bir bölümü çoklu kopya halinde tespit edilmektedir. RNA sekanslama analizleri sonucu elde edilen dizi etiketlerinin ortalama uzunluğu 150 bp olduğundan, dizi etiketlerinin her bir gen için birden fazla bölgeye hizalanması, dolayısı ile aynı genin BUSCO analizinde birden fazla kez tanımlanması beklenen bir sonuçtur ve ilerleyen analiz süreçlerinde konsensüs transkriptlerin belirlenmesi ile eşdeğer transkriptler elenmektedir.

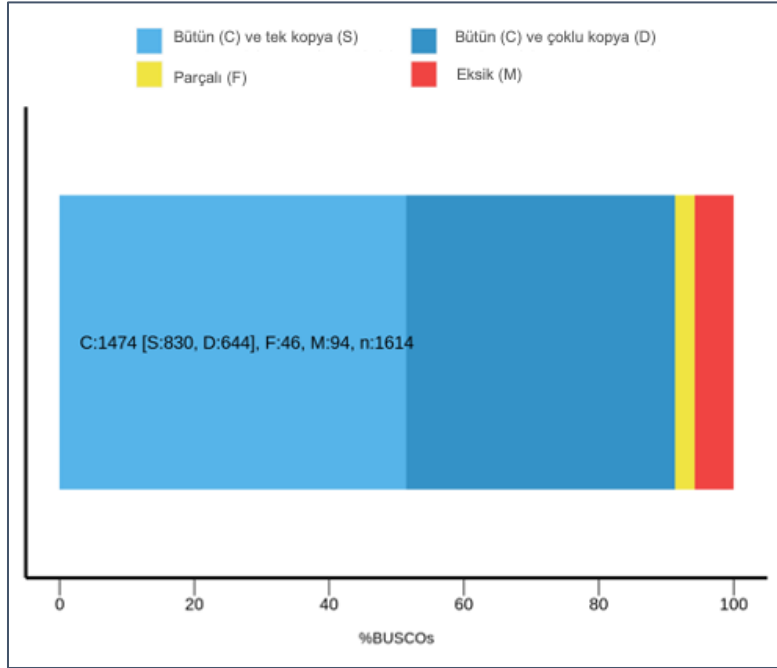
Birleştirilmiş transkriptomdan konsensüs transkriptlerin oluşturulması sonucunda 36,678 adet eşsiz transkript sekansı elde edilmiştir. Transkript sekansları (CDS: coding sequences/kodlayan sekanslar) ve bu sekansların kodladığı peptid sekansları iki ayrı veri seti halinde Figshare veritabanında depolanarak <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.27276600> adresinde erişime açılmıştır.

SSR markörleri bitki moleküler genetiği ve genomu çalışmaları güncel olarak sıklıkla kullanılmakta olup, yeni nesil sekanslama teknolojilerinin gelişimi ile birlikte çok sayıda türün genom ve transkriptom sekansları yüksek veri çıkışlı SSR markörü geliştirme çalışmalarında kullanılmaktadır.

Transkriptom sekansları, hedefli şekilde genik markör geliştirmeye olanak vermektedir ve yapılan çalışmalar bitki transkriptomlarından geliştirilen SSR markörlerinin ORF bölgelerde yer alma olasılığının yüksek olduğunu göstermiştir (Hodel ve ark., 2016). Markör niteliği taşıyan polimorfik lokusların ORF içinde yer alması, fonksiyonel markör olarak kullanılma potansiyellerinin yüksek olması anlamına gelmektedir. Bu çalışmada de novo transkriptom birleştirme biyoinformatik iş akışı kullanılarak birleştirilen

Şekil 1.

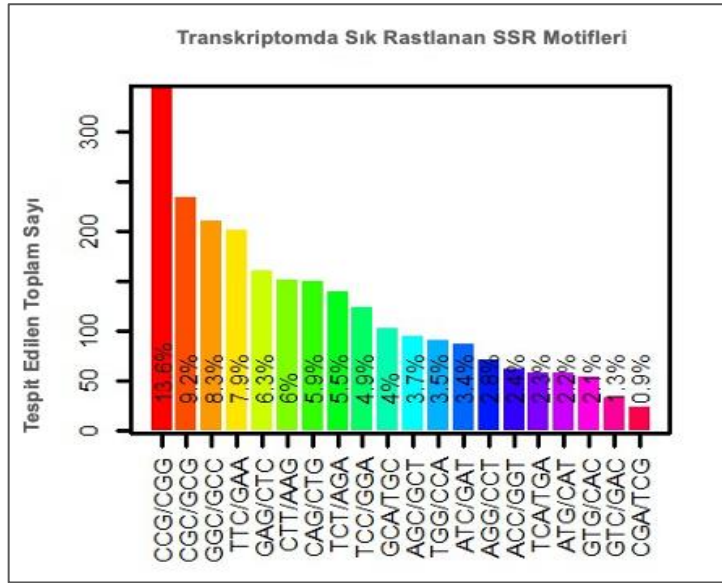
Birleştirilmiş transkriptomun BUSCO bütünlüğü analiz sonuçları



kekik transkriptomunda SSR markörleri geliştirilmiştir. Motif tekrar sayısını değiştiren mutasyonların açık okuma çerçevesinde çerçeve kaymasına sebep olma olasılığından dolayı trinükleotit SSR'ların diğer motif türlerine göre peptit kodlayan bölgede bulunma olasılığı daha yüksektir (Metzgar ve ark., 2000; Morgante ve ark., 2002; Li ve ark. 2004). Bu sebeple çalışmada trinükleotit SSR markörlerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Toplam 36,678 adet sekanstan oluşan 36 Mb büyüklüğündeki yaprak transkriptomunda 2536 adet en az 5 adet ardışık tekrardan oluşan trinükleotit SSR lokusu tespit edilmiştir. En yüksek sıklıkta görülen motif CCG/CGG, tespit edilen SSR'ların %13.6'sını oluşturmaktadır. CGC/GCG (%9.2) ve GGC/GCC (%8.3), ikinci ve üçüncü sıradaki en sık rastlanan motifleri oluşturmaktadır (Şekil 2). Tespit edilen motiflerin tamamı Tablo 1'de verilmektedir.

Şekil 2.

O. vulgare transkriptomunda sık rastlanan SSR motifleri



Tablo 1.

Yaprak Transkriptomunda Belirlenen Trinükleotit SSR Motiflerinin Dağılımı.

Motif(5'>3')	Motif Sayısı	Motif Sıklığı (%)
CCG/CGG	346	13,6
CGC/GCG	234	9,2
GGC/GCC	210	8,3
TTC/GAA	201	7,9
GAG/CTC	160	6,3
CTT/AAG	151	6
CAG/CTG	150	5,9
TCT/AGA	139	5,5
TCC/GGA	124	4,9
GCA/TGC	102	4,1
AGC/GCT	94	3,7
TGG/CCA	90	3,6
ATC/GAT	86	3,4
AGG/CCT	71	2,8
ACC/GGT	62	2,4
TCA/TGA	58	2,3
ATG/CAT	57	2,2
GTG/CAC	53	2,1
GTC/GAC	33	1,3
CGA/TCG	23	0,9
TTG/CAA	23	0,9
AAC/GTT	21	0,8
ACA/TGT	13	0,5
CGT/ACG	10	0,4
CTA/TAG	7	0,3
ACT/AGT	6	0,2
AAT/ATT	5	0,2
TAT/ATA	4	0,2
TAC/GTA	3	0,1
TOPLAM	2536	100

Kodlayan sekansların GC içeriğinin genomun tamamına kıyasla yüksek olduğu bilinmektedir ve bu çalışmada, *O.vulgare* transkriptomik SSR'lerinde en sık rastlanan motiflerin GC içeriği yüksek motifler olduğu görülmektedir (Şekil 2 ve Tablo 1).

Tespit edilen tekrar lokusları markör geliştirme analizlerinde kullanılmıştır. Toplam 2536 adet potansiyel polimorfik tekrar lokusu için 1731 adet markör geliştirilmiştir. Bu markörler, 2536 lokusun 2209 adedini kapsamaktadır. Markörler amplikon büyüklükleri 100 ve 300 bp arasında olacak şekilde dizayn edilmiştir. Bu boyut aralığı gerek agaroz jel elektroforezi, gerekse yüksek çözünürlüklü kapiler elektroforez sistemlerinde analiz edilmeye uygundur. Her bir markör için birleştirilmiş transkriptomda hangi sekansta yer aldığı, primerlerin sekans üzerindeki konumları, amplikon uzunluğu, primer erime sıcaklıkları ve primer sekansları bir veri seti halinde Figshare veritabanında depolanarak <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.27276600> adresinde erişime açılmıştır. Tablo 2'de 20 adet markör için primer sekansları ve amplikon uzunlukları verilmektedir. Çalışma kapsamında geliştirilen sekans-spesifik genik SSR markörleri, ülkemizin gen merkezi olduğu ve, önemli tıbbi ve aromatik bitkiler arasında yer alan *Origanum* türlerinde moleküler düzeyde gerçekleştirilecek genotip tanımlama, germplazm karakterizasyonu vb. çalışmalar için gerekli moleküler araçları oluşturacaktır.

Tablo 2.

SSR Markörü Çoğaltan Primer Sekansları ve Markör Amplikon Uzunlukları.

Markör	Primer-F (5'>3')	Primer-R (5'>3')	Amplikon Büyüklüğü (bp)
>MK1	TGCAGCCAATACGATTCTCA	TCATCAAGCTCATCCCCTTC	120
>MK2	AGGAGCAGGTTGTGGATGAC	CTCCTTCTCCCTCCTTGCTT	156
>MK3	AGGAGCAGGTTGTGGATGAC	ACACCGGTACCTTCGATCAC	223
>MK4	TCGGAGAGGAATCGAAAAGA	ACATCTCGGAGGCTGAGGTA	132
>MK5	TTGACCTTTGCCATCATTCA	ACGGCTTCTACACGAATTG	152
>MK6	GAGAGGGGAGGTGAAAATCC	CAACTGAAACAGAAACAGCACA	236
>MK7	TACTTCCCTCCCCAGAATCC	CTTGACGAAGGGCAAGTCTC	211
>MK8	TTTACAACCCAACCCAAAT	ATGGCTTCCCTTCTTTTGT	265
>MK9	CATCAGCCCTCTCATCCAAT	CACGTGTGGCATCAAAGAAC	249
>MK10	CTCTGGAGCTTCTGCTTTCG	TGGAGCCTTTCGATGATTTC	237
>MK11	CCAAACCCTACCGCCAAC	CAGCCCTACCTCCCTAAACC	120
>MK12	AATGCGATCCCCTCAAGTG	TGAAGACCTGGGCAGGATAC	241
>MK13	TGCTGAAAACGCTAATCACG	CTCCGAATTGCCTCAAGAAG	252
>MK14	CCCTCCAACAAAAGACCTCA	GGTTTTGACCGTGTGACT	238
>MK15	TCTAAGGCGACGGAAGAAGA	ACCGAAACAGCAAACCAGAG	249
>MK16	ACCCTTCCCTTCCCTTTAT	GTACTCCGACGCAGACGAA	216
>MK17	ATCGCCATGGTCGTGATAA	GTAGGGCGGAGACTCGATA	165
>MK18	GTTGAAGAAACGGTGGTGGT	GCTTTCAATGCTCTCCTTGC	266
>MK19	AGATCGCCGACAAAATTCAC	GAACACATCAGCAGCTTTCG	173
>MK20	CGAAGCAGCATAAGGTGGAT	GAAAGTTGGAACGGCAAGAC	263

SONUÇ

Kekik (*Origanum vulgare* L.), önemli ve yüksek tanınırlığa sahip bir tıbbi ve aromatik bitki türü olup, Anadolu coğrafyası *Origanum* türlerinin büyük bölümü için gen merkezidir. Bu çalışmada en çok bilinen başlıca kekik türleri arasında yer alan *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* transkriptom sekansı kullanılarak yüksek sayıda (1731 adet) sekans-spesifik genik SSR markörü geliştirilmiştir. Bitki transkriptomları üzerinden geliştirilen SSR markörlerinin peptid kodlayan ORF bölgelerini temsil etme potansiyeli yüksektir. Dolayısı ile bu markörlerin polimorfizm gösterdiği genotiplerde kodlanan peptidin de polimorfizm göstermesi olasılığı yüksek olmaktadır. Olgun mRNA'da belirlenen bir markör konumu ORF içine denk düşmeyip UTR (untranslated region/çevrilmeyen bölge) bölgelerde yer alsa dahi transkripsiyon hızı, translasyon etkinliği ve yanı sıra protein katlanmasına etki edebilmektedir. Bu

da kodlayan sekans bölgelerinde yer alan markörlerin kodlanan peptidi değiştirmeden de ilgili genin fonksiyonunda değişimlere yol açabilecekleri anlamına gelmektedir. Bu sebeple çalışma kapsamında geliştirilen markörlerin bir tıbbi ve aromatik bitki olan kekikte ‘fonksiyonel markör’ olarak metabolik karakterlerin ilişkilendirme analizlerinde kullanılma potansiyelleri yüksektir. Ayrıca bu markörlerin genetik çeşitliliğin moleküler düzeyde araştırıldığı çalışmalarda ‘ekspres edilen’ genetik farklılıklar için belirleyici olmaları beklenmektedir.

Yazar Katkıları

Tasarım/Design: Yazar 1 (%25) – Yazar 2 (%25) – Yazar 3 (%50)

Veri Toplama /Data Collection: Yazar 1 (%50) – Yazar 2 (%25) – Yazar 3 (%25)

Analiz ve yorum/Analysis or Interpretation: Yazar 1 (%50) – Yazar 2 (%20) – Yazar 3 (%30)

Literatür tarama/Literature Search: Yazar 1 (%60) – Yazar 2 (%20) – Yazar 3 (%20)

Yazma/Writing: Yazar 1 (%50) – Yazar 3 (%50)

Finansman

Yok.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması belirtmemiştir.

REFERANSLAR

- Alekseeva, M., Zagorcheva, T., Atanasov, I., & Rusanov, K. (2020). *Origanum vulgare* L.-a review on genetic diversity, cultivation, biological activities and perspectives for molecular breeding. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(6), 1183-1197.
- Alekseeva, M., Rusanova, M., Rusanov, K., & Atanasov, I. (2023). A set of highly polymorphic microsatellite markers for genetic diversity studies in the genus *Origanum*. *Plants*, 12, 824.
- Allam, N., Kıymacı, G., Kal, Ü. & Türkmen, Ö. (2022). Bazı nitelikli kapyra biber hatlarının TSWV'ne dayanım düzeylerinin belirlenmesi. *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 2(2), 62-66.
- Azizi, A., Wagner, C., Honermeier, B., & Friedt, W. (2009). Intraspecific diversity and relationship between subspecies of *Origanum vulgare* revealed by comparative AFLP and SAMPL marker analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 281, 151-160.
- Bhagya, H. P., Kalyana Babu, B., Gangadharappa, P. M., Naika, M. B., Satish, D., & Mathur, R. K. (2020). Identification of QTLs in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) using SSR markers through association mapping. *Journal of Genetics*, 99(1), 19.
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.
- Bozdemir, Ç. (2019). Türkiye’de yetişen kekik türleri, ekonomik önemi ve kullanım alanları. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 29(3), 583-594.
- Bushmanova, E., Antipov, D., Lapidus, A., & Prjibelski, A. D. (2019). rnaSPAdes: a de novo transcriptome assembler and its application to RNA-Seq data. *GigaScience*, 8(9), giz100.
- Cartea, M. E., Picoaga, A., Soengas, P., & Ordás, A. (2003). Morphological characterization of kale populations from northwestern Spain. *Euphytica*, 129, 25-32.
- Çetin, A., Uncu, A.T. & Turkmen, O. (2021). Determination of genetic diversity and BCMV and BCMNV tolerance with molecular methods on some bean genotypes. *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 1(1), 38-45.
- Dal, Y., & Türkmen, Ö. (2022). Determination of some morphological features of spinach populations. *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 2(1), 12-24.
- Haas, B. J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P. D., Bowden, J., ... & Regev, A. (2013). De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature Protocols*, 8(8), 1494-1512.
- Helsen, K., Jacquemyn, H., Hermy, M., Vandepitte, K., & Honnay, O. (2013). Rapid buildup of genetic diversity in founder populations of the gynodioecious plant species *Origanum vulgare* after semi-natural grassland restoration. *PLoS One*, 8(6), e67255.
- Hodel, R. G., Gitzendanner, M. A., Germain-Aubrey, C. C., Liu, X., Crawl, A. A., Sun, M., ... & Soltis, P. S. (2016). A new resource for the development of SSR markers: millions of loci from a thousand plant transcriptomes. *Applications in Plant Sciences*, 4(6), 1600024.
- Islam, A. F., & Blair, M. W. (2018). Molecular characterization of mung bean germplasm from the USDA core collection using newly developed KASP-based SNP markers. *Crop Science*, 58(4), 1659-1670.
- Jasrotia, R. S., Yadav, P. K., Iquebal, M. A., Bhatt, S. B., Arora, V., Angadi, U. B., ... & Kumar, D. (2019). VigSatDB: Genome-wide microsatellite DNA marker database of three species of *Vigna*

- for germplasm characterization and improvement. *Database*, baz055.
- Jedrzejczyk, I. (2018). Study on genetic diversity between *Origanum* L. species based on genome size and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, 126, 201-207.
- Karcı, H. & Kafkas, S. (2024). Impact of mark duplicate reads during variant calling in next generation sequencing (NGS) data of *Pistacia vera* L. *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 4(1), 11-18.
- Katsiotis, A., Nikoloudakis, N., Linos, A., Drossou, A., & Constantinidis, T. (2009). Phylogenetic relationships in *Origanum* spp. based on rDNA sequences and intra-genetic variation of Greek *O. vulgare* subsp. *hirtum* revealed by RAPD. *Scientia Horticulturae*, 121(1), 103-108.
- Li, Y. C., Korol, A. B., Fahima, T., & Nevo, E. (2004). Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 21(6), 991-1007.
- Li, W., & Godzik, A. (2006). Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 22(13), 1658-1659.
- Mechergui, K., Jaouadi, W., Bekele, W. A., Khouja, M. L., & Friedt, W. (2017). Genetic structure and differentiation among oregano [*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart] provenances from North Africa: bioinformatic approaches cause systematic bias. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64, 717-732.
- Metzgar, D., Bytof, J., & Wills, C. (2000). Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Research*, 10(1), 72-80.
- Morgante, M., Hanafey, M., & Powell, W. (2002). Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics*, 30(2), 194-200.
- Novak, J., Lukas, B., Bolzer, K., Grausgruber-Gröger, S., & Degenhardt, J. (2008). Identification and characterization of simple sequence repeat markers from a glandular *Origanum vulgare* expressed sequence tag. *Molecular Ecology Resources*, 8(3), 599-601.
- Sa, K. J., Park, H., Jang, S. J., & Lee, J. K. (2023). Association mapping of amylose content in maize RIL population using SSR and SNP markers. *Plants*, 12(2), 239.
- Santos, R. C., Pires, J. L., & Correa, R. X. (2012). Morphological characterization of leaf, flower, fruit and seed traits among Brazilian *Theobroma* L. species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 327-345.
- Shukla, R. P., Tiwari, G. J., Joshi, B., Song-Beng, K., Tamta, S., Boopathi, N. M., & Jena, S. N. (2021). GBS-SNP and SSR based genetic mapping and QTL analysis for drought tolerance in upland cotton. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(8), 1731-1745.
- Uncu, A. Ö., Gultekin, V., Allmer, J., Frary, A., & Doganlar, S. (2015). Genomic simple sequence repeat markers reveal patterns of genetic relatedness and diversity in sesame. *The Plant Genome*, 8(2), plantgenome2014-11.
- Wang, X., & Wang, L. (2016). GMATA: an integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1350.
- Yeo, S., Lee, M., Wang, L., Endah, S., Alhuda, N. A., & Yue, G. H. (2023). Microsatellite analysis of genetic diversity and relationships in 1027 sugarcane accessions. *Sugar Tech*, 25(5), 1082-1091.