

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ÇEREZLİK KABAK POPULASYONLARININ
GENETİK ANALİZİ

Hazırlayan
Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Danışman
Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Yüksek Lisans Tezi

Haziran2019

KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ÇEREZLİK KABAK POPULASYONLARININ
GENETİK ANALİZİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan

Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Danışman

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FYL-2018- 8055 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

Haziran2019

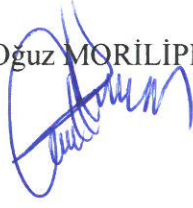
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Engin Oguz MORİLİPİNAR

İmza



YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Çerezlik Kabak Populasyonlarının Genetik Analizi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Danışman

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Bahçe Bitkileri Bölümü ABD Başkanı

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN danışmanlığında Engin Oğuz MORİLİPİNAR tarafından hazırlanan “Çerezlik Kabak Populasyonlarının Genetik Analizi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

21 / 06 / 2019

JÜRİ:

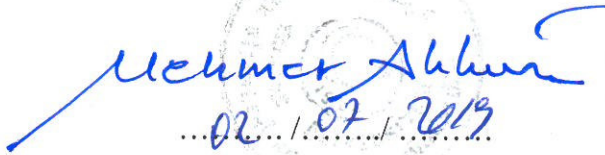
Danışman : Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Funda ATILA

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fatih HANCI

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 02/07/2019 tarih ve 2019/32-77 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


...02.../07.../2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bana çalışmalarım süresince her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde, yazmamda, çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, bugünlere gelmemde büyük katkı sağlayan, bu araştırmanın her aşamasında yönlendirici katkıları ve değerli yardımları için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Osman GÜLŞEN'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında bilgi ve destekleriyle sürekli yanımda ve yardımcı olan, değerli Arş. Gör. Akife DALDA ŞEKERCİ' ye, arkadaşım Ziraat Mühendisi Solmaz KAMAŞAK' a ve Ziraat Yüksek Mühendisi Funda KILIÇ' a, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve öğrencilerine teşekkürü borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca hep yanımda olan ve tez çalışmalarım esnasında maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen çok değerli aileme gönülden sevgi ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne (Proje No: FYL-2018-8055) teşekkür ederim.

Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Haziran 2019, KAYSERİ

ÇEREZLİK KABAK POPULASYONLARININ GENETİK ANALİZİ

Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2019

Danışman: Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

ÖZET

Bu çalışma Kayseri ilinde yetiştiriciliği yapılan farklı genotip kaynaklarında varyasyon düzeyini araştırmak, genetik ilişkileri tespit etmek ve bağlantı eşitsizliğini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma kapsamında ağırlıklı olarak Kayseri ilinin Develi, Yeşilhisar ve Tomarza ilçelerinden temin edilen 140 farklı çerezlik kabak genotipinin genetik analizi yapılmıştır. DNA amplifikasyonu için 18 farklı ISSR primeri kullanılmıştır. Bant veren ve skorlanabilen primerlerle tüm DNA örnekleri ile PCR yapılmıştır. Toplamda kaydedilen 188 markır, NTSYS ve ARLEQUIN programı kullanılarak analiz edilmiştir. NTSYS'le UPGMA ve PCA analizleri, diğer programla da populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyon dağılımını (AMOVA) görmek ve bağlantı eşitsizliği durumunu tespit etmek amacıyla sırasıyla LD analizleri gerçekleştirilmiştir. LD analizleri çerezlik kabak populasyonlarında tespit edilen markırlar arasında tesadüfi olmayan bağlantıları tespit edebilmek için bağlantı eşitsizliği (LD) analizleri yapılmıştır. Yürütülen bu çalışmada PCR çalışmaları ile elde edilen analizler sonucunda ISSR primerleri ile elde edilen 188 markır için, toplam polimorfizm oranı %98 olarak belirlenmiştir. Yapılan NTSYS ve UPGMA analizleri sonucunda 140 genotip benzerlik düzeyinin 0.72 ortalama ile 0.47-0.97 arasında değiştiği ve temelde 2 ana grup oluşturduğu görülmüştür. AMOVA analizleri sonucunda ise toplam varyasyonun %68'inin populasyon içinde %32'sinin ise populasyonlar arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç ıslah programlarında hem populasyon içinin hem de farklı populasyonların dikkate alınması gerektiğini ortaya koymuştur. LD analizlerinde ise markırlar arasında yapılan bağlantı analizlerinde farklı markırlarla bağlantılı markır sayıları değişken bulunmakla beraber markırlarla önemli karakterleri yöneten genler açısından haritalama yapılabilirliğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Çerezlik Kabak, ISSR, AMOVA, NTSYS, ARLEQUIN

GENETIC ANALYSIS OF PUMPKINS POPULATIONS

Engin Oğuz MORİLİPİNAR

Erciyes University, Department of Horticulture

Master Thesis, June,2019

Supervisor: Prof. Dr. Osman Gülşen

ABSTRACT

Within the scope of this study, genetic analysis of 140 types of pumpkin genotypes obtained from Develi, Yeşilhisar and Tomarza districts of Kayseri province were performed. Molecular characterization studies were performed by DNA isolation from fresh leaf samples. For DNA amplification, 18 different ISSR primers were used. PCR was performed with all DNA samples with banding and scoring primers. A total of 188 markers were obtained. Obtained data were analyzed by using NTSYS and ARLEQUIN program. UPGMA and PCA analyze with NTSYS were also measured by AMOVA analysis to see intra- and inter-population variation distribution within the other program. In addition, inequality (LD) analyses were performed in order to detect non-random connections between the markers detected in the snack pumpkin populations studied. In this study, as a result of the analyzes obtained by PCR studies, a total of 188 bands were obtained with ISSR primers and the total polymorphism rate was determined as 97%. As a result of the NTSYS and UPGMA analyzes, 140 genotype similarity levels ranged from 0.47 to 0.97 with an average of 0.72 and basically formed two main groups. As a result of AMOVA analysis, the population differences among pumpkins varied between 0.10 and 0.68. There were significant LD among the loci analyzed.

Keywords: Pumpkin, ISSR, AMOVA, NTSYS, ARLEQUIN

İÇİNDEKİLER

| | |
|------------------------------|------|
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK..... | i |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK..... | ii |
| ONAY:..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | iv |
| ÖZET..... | v |
| ABSTRACT..... | vi |
| İÇİNDEKİLER..... | vii |
| KISALTMALAR ve SİMGELER..... | x |
| TABLolar LİSTESİ..... | xii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ..... | xiii |

1.BÖLÜM

| | |
|---|---|
| GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Kabakla İlgili Genel Bilgiler | 1 |
| 1.2. Moleküler Sistematikte Kullanılan Markır Tipleri | 5 |
| 1.2.1. Morfolojik Markırlar | 5 |
| 1.2.2. Biyokimyasal Markırlar | 5 |
| 1.2.3. DNA Markırları | 6 |
| 1.2.3.1. Hibridizasyona Dayalı Moleküler Markırlar | 7 |
| 1.2.3.1.1. RFLP (Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi) | 7 |
| 1.2.3.2. PCR Tekniğine Dayalı Moleküler Markırlar | 8 |
| 1.2.3.2.1. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) Yöntemi: | 8 |

| | |
|--|----|
| 1.2.3.2.2. AFLP (Çoğaltılan Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi) Yöntemi: | 9 |
| 1.2.3.2.3. SSR (Mikrosatellit veya basit dizin tekrarları) Yöntemi: | 9 |
| 1.2.3.2.4. ISSR Yöntemi: | 10 |
| 1.2.3.2.5. SRAP Yöntemi: | 10 |
| 1.2.3.2.6. STS Yöntemi: | 11 |
| 1.2.3.2.7. SCAR Yöntemi: | 11 |
| 1.3. Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Yöntemi: | 11 |
| 1.4. Kabakgillerde Yapılan Bazı Önceki Çalışmalar | 12 |

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

| | |
|--|----|
| 2.1. Materyal | 16 |
| 2.1.1. Bitki Materyali | 16 |
| 2.1.2. ISSR Primerleri | 17 |
| 2.2. Yöntem | 18 |
| 2.2.1. Bitki Materyalinin Eldesi | 18 |
| 2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu ve Protokolü | 18 |
| 2.2.3. DNA Miktarı | 19 |
| 2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) | 20 |
| 2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi | 21 |
| 2.2.6. Polimorfizmin hesaplanması | 22 |

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

| | |
|---|----|
| 3.1. Primer Testleri | 24 |
| 3.2. Çerezlik Kabak Genotiplerinin Karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi | 24 |
| 3.3. Benzerlik İndekslerinin Hesaplanması ve UPGMA Dendrogramın Oluşturulması..... | 25 |
| 3.4. ISSR verileri ile ortalama farklılık matrisine göre yapılan neighbour-joining dendrogramının değerlendirilmesi | 28 |
| 3.5. ISSR verileri ile yapılan AMOVA (moleküler varyans analizi) test sonuçlarının değerlendirilmesi | 39 |
| 3.6. Kullanılan populasyonlar arası ortalama uzaklıklar..... | 40 |

3. BÖLÜM

| | |
|--|----|
| SONUÇ ve ÖNERİLER..... | 46 |
| KAYNAKÇA..... | 48 |
| EKLER..... | 57 |
| EK-1 AMOVA ANALİZLERİ İÇİN HAZIRLANAN..... | 57 |
| EK-2 ARLEQUIN Proje Dosyası | 64 |
| ÖZGEÇMİŞ | 68 |

KISALTMALAR ve SİMGELER

| | |
|-------------------|---|
| °C | : Santigrat derece |
| ABD | : Amerika Birleşik Devletleri |
| AFLP | : Amplified Fragment Length Polymorfism |
| AG | : Ayırma Gücü |
| AMOVA | : Analysis of Molecular Variance |
| bç | : Baz Çifti |
| dH ₂ O | : Distile su |
| cm | : Santimetre |
| CTAB | : Setil Trimetil Amonyum Bromit |
| çek | : Çekirdek |
| d/d | : Dakikadaki devir sayısı |
| da | : Dekar |
| dATP | : Deoksi Adenozin Trifosfat |
| dCTP | : Deoksi Stidin Trifosfat |
| dGTP | : Deoksi Guanozin Trifosfat |
| dk | : Dakika |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| dTTP | : Deoksi Timidin Trifosfat |
| EDTA | : Etilendiamin Tetraasetikasit |
| g | : Gram |
| ISSR | : Inter Simple Sequence Repeat |
| KNO ₃ | : Potasyum Nitrat |
| LD | : Linkage Disequilibrium |
| m | : Metre |
| M | : Molar |

| | |
|---|--|
| m ² | : Metrekare |
| MAS | : Marker Yardımlı Seleksiyon |
| mg | : Miligram |
| MgCl ₂ | : Magnezyum Klorür |
| mm | : Milimetre |
| Mm | : Milimolar |
| Na ₂ S ₂ O ₅ | : Sodyum Metabisülfid |
| OK | : Ozmotik koşullandırma |
| TÜİK | : Türkiye İstatistik Kurumu |
| NTSYS | : Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System (Değişkenli Sayısal taksonomi Analiz Sistemi) |
| PCR | : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) |
| Pmol | : Pikomol |
| RAPD | : Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) |
| RFLP | : Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi) |
| RNA | : Ribonükleik asit |
| SRAP | : Sequence-Related Amplified Polymorphism (Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm) |
| SSR | : Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları) |
| TE | : Tris-EDTA |
| Tris | : Trisodyum tuzu |
| UPGMA | : Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages (Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu) |
| V | : Volt |
| T | : Timin |

TABLolar LİSTESİ

| | |
|---|---|
| Çizelge 1.1. Türkiye'nin en önemli çerezlik kabak üreticisi illeri ile ekim yapılan alan ve üretim miktarlarının 2015, 2016 ve 2017 yıllarındaki değişimleri..... | 4 |
| Çizelge 1.2. En sık kullanılan moleküler markırların karşılaştırılması. | 7 |
| Çizelge 2.1. Kullanılan bitkisel materyal listesi..... | 16 |
| Çizelge 2.2. Bu çalışma çerçevesinde kullanılan primer adı, sekansı ve kullanılan bazı sembollerin anlamları | 17 |
| Çizelge 2.3. ISSR analizleri PCR reaksiyon karışımı..... | 20 |
| Çizelge 2.4. PCR döngüsü..... | 21 |
| Çizelge 3.1. Skoring sonucunda elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) ve polimorfizm oranı (%) olarak gösterir çizelge..... | 25 |
| Çizelge 3.2. AMOVA analizlerinde kullanılan kayıp verisi %5'in altında olan markır listesi. | 39 |
| Çizelge 3.3. Kayıp verisi %5'ten fazla olan markır listesi..... | 40 |
| Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan 15 adet populasyonlar arası uzaklıkları gösteren matris..... | 41 |
| Çizelge 3.5. Polimorfik lokus başına bağlantılı lokus sayısı (Anlamlılık düzeyi=0.05)..... | Hata! Yer işareti tanımlanmamış. |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Kıtalara göre toplam kabak üretimindeki payları | 3 |
| Şekil 2.1 Primerlerin görüntüleri | 17 |
| Şekil 2.2. DNA'ların PCR hazırlanması | 21 |
| Şekil 3.1. Yirmi adet primer test görüntüsü | 24 |
| Şekil 3.2.140 kapak çeşidinde Dice benzerlik indeksinden yararlanılarak oluşturulan UPGMA dendrogramı..... | 27 |
| Şekil 3.3.Neighbour-joining analizi ile 140 genotip arasındaki uzaklığı gösterir dendrogram..... | 28 |

1.BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Kabakla İlgili Genel Bilgiler

Kabakgiller, *Dicotyledoneae* sınıfı *Cucurbitales* takımı *Cucurbitaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Bu familya içerisinde yer alan türler tropik kökenli sıcak iklim sebzeleridir (Chadha, 1993). *Cucurbitaceae* familyası kavun, karpuz, hıyar, kabak, kudret narı gibi dünyada yetiştiriciliği yaygın olan sebzeleri içine alan önemli bir familya olup, yaklaşık 119 cins ve 825 türü kapsamaktadır (Jeffrey, 2005).

Günümüzde yetiştiriciliği yapılan *Cucurbita* cinsi içerisinde yer alan önemli türler, *Cucurbita pepo* (Yazlık Kabaklar), *C. moschata* (Bal Kabakları), *C. mixta* (Kışlık Kabaklar), *C. maxima* (Kestane Kabağı), *Luffa cylindrica* (Lif Kabakları), *Lagenaria sicareria* (Su Kabakları), *Momordica charantia* (Kudret Narı)'dır. *Cucurbita pepo* çerezlik olarak en fazla yetiştiriciliği yapılan türdür (Ferriol, 2000).

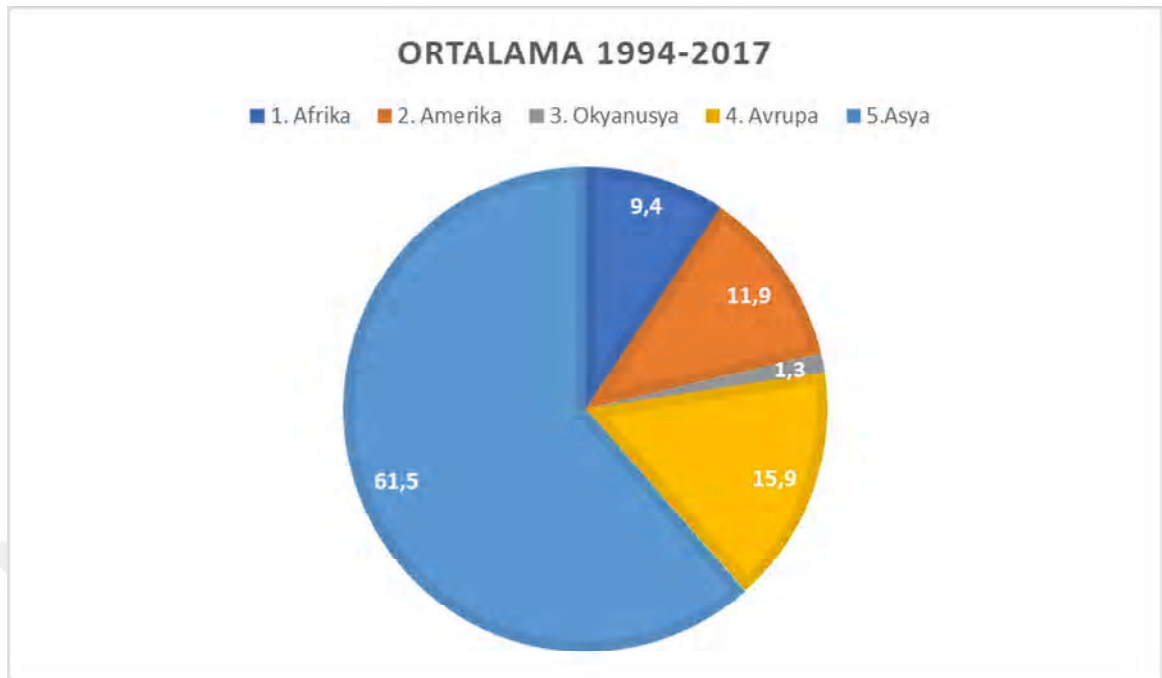
Kabak, farklı iklim koşullarına adaptasyon sağlayabilen, tek yıllık, ılıman ve sıcak iklim sebzesidir. Kısa bir vejetasyon süresine sahiptir ve yaklaşık 1200 saatlik bir GDD (yetişme süresi) olgunlaşmak için yeterlidir. Çiçek yapısı monoik olan kabaklar, farklı meyve şekillerine sahiptir. Ülkemizde kabaklar, yazlık ve kışlık kabak olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Yazlık kabaklar içinde Sakız, Girit, su ve asma kabağı yer almaktadır. Kışlık kabaklar ise bal, kestane ve diğer iri kabaklardan oluşur (Ermiş, 2010). Bal kabakları oldukça değişik meyve formu gösterir. Bunlar üç grup altında toplanabilir. Birinci grup uzun silindir, ikinci grup yuvarlak veya basık yuvarlak, üçüncü grup armut şeklindedir. Kabak rengi sarı ve turuncudur. Et rengi açık turuncudan koyu turuncuya kadar değişir. Kabuğu düz olanların yanında oluklu ve dilimli olanlara da rastlanır. Meyveler oldukça iri olup, 5-25 kg arasında geniş bir varyasyon gösterir. Kestane kabağı daha çok yuvarlak ve basık yuvarlak şeklindedir.

Kabuğu kurşuni beyaz, eti sarı, sarı turuncu, açık turuncu renklidir. Bal ve kestane kabaklarında saplar oldukça büyük, odunsu ve köşelidir.

Çerezlik kabak meyve özellikleri açısından da en polimorfik olan türdür. *Cucurbita pepo*'nun kültür bitkisi olarak yetiştirilenleri meyve büyüklüğü, şekli ve rengi açısından son derece çeşitlilik gösterir ve neredeyse hepsi yabani akrabalarına göre daha kalın ve etli kısmı acı olmayan daha yüksek derecede renkli ve daha az lifli meyvelere sahiptir. Kültür formları çeşitleri daha büyük, daha az sayıda vejetatif ve generatif organlara sahiptir (Whittaker ve Bemis, 1964). Kabakların büyük bir çoğunluğu gıda amaçlı üretilirken, bazıları da süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Genellikle yenilebilir yuvarlak meyveli olan türler “pumpkins”, yenilebilir yuvarlak olmayan türler “squash” yenmeyenler ise “gourd” olarak adlandırılır (Paris ve ark., 2003). İkincisi Amerika'daki yabani formları temsil eder (Decker, 1988). *Cucurbita pepo* ise yabaniler içinde tanımlanamaz. Meyve şekli çeşitliliği temeline dayanan sınıflandırmaya göre, *C. pepo*'nun meyveleri yenen sekiz grubu vardır (Paris, 1986). Bunlara daha sonra iki ornemantal (süs bitkisi) grup da kültür formu olarak eklenmiştir. Bu on grubu Pumpkin (yuvarlak), Cocozelle (uzun, şişkin ve silindirik), Vegetable Marrow (kısa, sivri silindirik), Zucchini (düzgün silindirik), Orange Gourd (küçük, yuvarlak), Acorn (Karışık çizgili), Scallop (düz, tarak kabuğu şeklinde), Crookneck (uzun, ince boyunlu), Straighthneck (kısa kalın boyunlu) ve Ovifera Gourd (küçük), şekilli olarak anılmaktadır.

Çerezlik kabak (*C. pepo*) yetiştiriciliğinin yemeklik kabak tarımına göre bazı avantajları vardır. Bunlar, sulamanın sık yapılmasına gerek olmaması, tamamen kıraç koşullarda da çerezlik kabak tarımının yapılabilmesi, ekim nöbeti için uygun bir tür olabilmesi, hasat kolaylığı, kültürel işlemlerin büyük oranda makine ile yapılabilmesi, hastalık ve zararlılar açısından fazla sıkıntıya yol açmaması gibi nedenler sayılabilir. Ülkemizde çerezlik kabak tarımı genelde *C. pepo* (yazlık kabaklar) ile yapılmaktadır. Nadiren *C. moschata* (Bal Kabakları) türü de çekirdeklik kabak tarımı için kullanılmaktadır (Yanmaz ve Düzeltir, 2003).

2017 yılı FAO verilerine göre dünyada 2.078.450 hektar alanda 27.449.481 ton yemeklik kabak üretimi gerçekleştirilmiştir. Dünyada kabak üretimi 5 kıta arasında en fazla üretim Asya kıtasında (12.533.491,46 ton) gerçekleştirilmektedir (Şekil 1.1). FAO tarafından çerezlik kabak verileri sunulmamaktadır.



Şekil 1.1. Kıtalara göre toplam kabak üretimindeki payları (FAO, 2019)

Dünya’da 2.078.450 hektar alanda 27.449.48 ton kabak üretimi yapılmaktadır. Bunun %60.6’sını 16.623.732 ton ile Asya kıtası karşılarken bunu %15.4 ile Avrupa kıtası izlemektedir. Dünya kabak üretiminde Çin 7.996.362 ton ile birinci sırada yer alırken bu sırayı Hindistan (5.142.812 ton), Rusya (1.165.834), Ukrayna (1.164.660) ve Amerika (1.091.121 ton) takip etmektedir. Türkiye ise üretimde dünyada 9. sıradadır (580.624 ton). (FAO, 2017).

Özellikle 2004 yılından itibaren Ülkemizde çerezlik kabak yetiştiriciliğinin hızla yayılmaya başladığı görülmektedir (Menemencioğlu ve ark., 2014). Türkiye’de 2017 yılı TÜİK verilerine göre 784.392 da alanda 580.624 ton kabak üretimi yapılmaktadır. Bunun 93.692 dekarında 449.561 ton yemeklik sakız kabağı, 649.643 dekarında ise 41.326 ton çerezlik kabak ve 41.057 dekarında ise 89.737 ton ile bal ve kestane kabağı yer almaktadır. Çerezlik kabakta Nevşehir (14.270 ton) ile ilk sıra yer almakta olup, bu ili Kayseri 12.665 ton, Aksaray 3.977 ton ile takip etmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1.1. Türkiye'nin en önemli çerezlik kabak üreticisi illeri ile ekim yapılan alan ve üretim miktarlarının 2015, 2016 ve 2017 yıllarındaki değişimleri (TUİK, 2018).

| İLLER | 2015 | | 2016 | | 2017 | |
|----------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Ekilen alan (dekar) | Üretim miktarı (ton) | Ekilen alan (dekar) | Üretim miktarı (ton) | Ekilen alan (dekar) | Üretim miktarı (ton) |
| Kayseri | 308.756 | 15.669 | 313.101 | 15.053 | 315.896 | 12.665 |
| Nevşehir | 167.426 | 12.746 | 172.969 | 13.513 | 187.158 | 14.270 |
| Aksaray | 44.150 | 3.676 | 45.960 | 4.028 | 44.950 | 3.977 |
| Konya | 29.195 | 3.804 | 30.620 | 3.928 | 37.259 | 4.600 |
| Toplam | 615.119 | 41.612 | 628.441 | 42.181 | 649.643 | 41.326 |

Türkiye'nin 2018 yılı toplam çerezlik kabak üretimi 55.043 tondur. Çerezlik kabak üretiminde 16.751 ton üretim ile Kayseri ilk sırada yer alırken 16.403 ton üretim ile Nevşehir ikinci sırada ve 8.982 ton üretim ile Konya 3.sırada yer almaktadır (TUİK, 2018).

İnsan beslenmesi açısından değerlendirildiğinde, çerezlik kabak insan beslenmesi açısından oldukça önemli bir sebze türüdür. Kabak çekirdeğinin yağ, protein, mineral maddeler ve aminoasitler yönünden zengin olduğu bilinmektedir. (Yanmaz ve ark., 2010). Kabak meyvesi %8 civarında kuru madde içerir. Minerallerden ise potasyum (%0.03), kalsiyum (%0.02), magnezyum (%0,1) ve fosfor (%0.01) bulunmaktadır. Yağ oranı meyvede %1, tohumda %10 civarındadır. Ancak bazı çeşitlerde bu oran %35-45'e kadar çıkabilir. Kabaklarda bol miktarda A, B ve C vitamini bulunur. 100 g kabakta 1.000-16.000 IU A vitamini, 0.18- 0.16 mg B1, 0.2-2 mg B2, 2-5 mg niacin ve 28-75 mg C vitamini bulunmaktadır. Kabak çekirdeğinin doymamış yağ asitleri (%35-47), protein (%33-36) ve karbonhidrat (%37) yönünden zengin olduğu kadar, mineral maddeler ve özellikle E vitamini yönünden de oldukça zengin olduğu belirtilmiştir. Çerezlik olarak tüketildiğinde, tohumunda bulunan "piperazin" den dolayı bağırsak parazitlerini dökmeye etkilidir. Hazmı kolaydır ve mide rahatsızlığı olanlara önerilmektedir. Halk hekimliğinde, böbrek taşı düşürmede, kulak ağrısını gidermekte

kullanılmaktadır. Zengin bir kaynak olması nedeniyle kabak çekirdeğinden elde edilen yağ, sadece gıda endüstrisinde değil, ilaç ve kozmetik endüstrisinde de önem taşımaktadır. Yapılan araştırmalara göre, 100 g yaş kabak çekirdeğindeki E vitamini miktarı 3,8-4,5 mg iken, kavrulma sonunda E vitamini (tokoferol) yükselmekte ve kullanılan kabak hatlarına bağlı olarak 13-18 mg'a çıkmaktadır. E vitamininde (tokoferol) olduğu gibi kavrulma sonunda yağ asitleri kompozisyonunda da artış olmaktadır. Zeytin ve kılıç balığında bulunan kolesterol düşürücü bir hidrakerbon olan squalene'in kabak tohumlarında da bulunduğu bildirilmektedir (Yanmaz, 2004).

1.2. Moleküler Sistemikte Kullanılan Markır Tipleri

1.2.1. Morfolojik Markırlar

Morfolojik özellikler tek genle kontrol edilebilir ve genetik markır olarak kullanılabilir. Görsel olarak değerlendirilebilen kalitatif özelliklerdir. Bu markırlar bitki doğasında vardır ve mutasyon sonucu ortaya çıkmışlardır (Aka-Kaçar ve ark., 2001). Morfolojik markır sayılarının az olması, çevresel faktörlerden etkilenmeleri gibi dezavantajlara sahiptirler. Bunların yanı sıra bu markırlar genellikle dominant özelliktedirler. Bu markırların avantajları ise analizlerinin kolay olmasıdır (Özcan ve ark., 2004).

1.2.2. Biyokimyasal Markırlar

Biyokimyasal markırlar genlerin ürettikleri proteinlerdir. İzoenzimler farklı olarak yüklenmiş proteinlerdir (Staub ve ark., 1996). Elektroforez tekniği kullanılarak kolayca ayrılabilirler. Enzimler spesifik biyokimyasal reaksiyonları kataliz ederler. Belirli enzimlerin substrat ve kofaktörleri eklenerek jel üzerinde görülmesi sağlanarak, enzimatik reaksiyonların ürünleri renkli olarak üretilir. Renkli ürünler jel üzerinde görülür bantlar oluşturulur. Bu bantlar genetik temellere sahiptir. Kodominant markır olarak genetik bilgi sağlar. Bununla birlikte morfolojik karakterlere göre çok daha yaygın kullanılmaktadır. İzoenzim lokuslarının azlığı ve bazı enzim sistemlerinin çevre koşullarından etkileniyor olması kullanımlarını sınırlar (Aka-Kaçar ve ark., 2001).

Biyokimyasal markırların maliyeti, moleküler markırlara oranla daha düşüktür. Daha az iş gücüyle elde edilirler (Staub ve ark., 1996). Genetik çeşitliliğin tayininde enzim sistemlerinin etkin şekilde kullanılmamasının nedeni, enzim sisteminin sınırlı sayıda ve izoenzimlerle elde edilen vasyonunun kısıtlı olmasıdır (Che ve ark., 2003)

1.2.3. DNA Markırları

Moleküler markırlar DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilirler (Yıldırım ve ark., 2001). DNA'da bulunan poliforfizme dayanarak moleküler markırların geliştirilmesi; taksonomi, filogeni, ekoloji, genetik ve bitki ıslahı alanlarında yürütülen çalışmaları büyük oranda kolaylaştırmaktadır (Esposito ve ark., 2007)

Moleküler Markırların Avantajları;

- 1) Çevre faktörlerinden etkilenmezler,
- 2) Çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışabilmektedir,
- 3) Genetik değişiklikleri daha fazla yansıttıkları için daha az pleiotroftir (bir genin birden fazla karakteri kontrol etmesi),
- 4) Her bir ebeveyninden gelen farklı karakterler tespit edilebilmesi için bitkilerin genetik orijini tespit edilebilir,
- 5) Sonsuz sayıda moleküler markırlar elde edilebilmektedir (Gülşen ve ark., 2005).

Moleküler markırların bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak bitki genom haritalaması, markırlar yardımıyla ıslah (marker-assisted breeding), gen klonlama, tohum saflığı testleri ve saflık tayinleri örnek verilebilir (Roder ve ark., 1995; Brown ve ark., 1996; Ayres ve ark., 1997).

Genetik markırlarla ilgili önemli kriterler:

Polimorfizm (Farklılık Gösterme): Kullanılan bir markırın farklı genotipleri ayırt edebilme yeteneğidir. Markırların farklılık gösterme oranları markır tipine ve bitki türüne göre büyük ölçüde değişmektedir (Yıldırım ve ark., 2001). Polimorfizm oranının yüksek olması tercih edilen bir durumdur.

Güvenilirlik: Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markır analizinin her zaman, her koşulda aynı sonuçları vermesidir. Güvenilirlik markır tipine göre değişir (Yıldırım ve ark., 2001).

Eşbaskınlık (ko-dominatlık): Markırların eş baskın olması yani her iki allelinin de ayırt edilebilmesidir. Bu tercih edilen bir durumdur (Yıldırım ve ark., 2001).

Markır teknikleri kendi aralarında PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli olmaları, polimorfizm gösterme kaliteleri, dominant veya ko-dominant markırların tespitine izin vermeleri, verimlilik, otomasyon ve maliyet açısından farklılıklar göstermektedirler. En sık kullanılan markır tekniklerinin bu özellikleri Çizelge 1,2’de verilmiştir (Meksem ve ark., 2005).

Çizelge 1.2. En sık kullanılan moleküler markırların karşılaştırılması (Meksem ve ark., 2005).

| Markır Tekniği | PCR Temelli Olması | Polimorfizm | Dominantlık | Verim | Otomasyon | Maliyet |
|----------------|--------------------|-------------|------------------------|--------|-------------|---------|
| RFLP | Hayır | Düşük/Orta | Kodominant | Yüksek | Düşük | Yüksek |
| RAPD | Evet | Orta/Yüksek | Dominant | Düşük | Orta | Düşük |
| SCAR | Evet | Yüksek | Kodominant | Yüksek | Orta | Orta |
| SSR | Evet | Yüksek | Kodominant | Yüksek | Orta/Yüksek | Düşük |
| AFLP | Evet | Yüksek | Dominant | Yüksek | Orta/Yüksek | Orta |
| ISSR | Evet | Yüksek | Dominant | Yüksek | Orta/Yüksek | Düşük |
| STS | Evet | Yüksek | Kodominant Dominant | Yüksek | Orta/Yüksek | Düşük |

DNA markırları;

1) Hibridizasyona dayalı markırlar (RFLP)

2) PCR’a dayalı markırlar (RAPD, SSR, AFLP, SRAP vb.) şeklinde 2 grupta incelenebilir. Günümüzde PCR’a dayalı markırların kullanımı daha yaygındır. PCR’ın geliştirilmesiyle birlikte varyasyonun moleküler karakterizasyonunda modern devrim başlamıştır (Solmaz ve ark., 2010).

1.2.3.1. Hibridizasyona Dayalı Moleküler Markırlar

1.2.3.1.1. RFLP (Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)

Hibridizasyona dayalı ko-dominant bir markır sistemidir (Sambrook ve ark., 1989). RFLP dokulardan izole edilen genomik DNA’nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince spesifik olarak kesilmesi ve oluşan DNA parçalarının elektroforezde ayrıldıktan sonra naylon ya da nitroselüloz membrana transfer edilerek DNA proplarıyla etiketlenmesi esasına dayanır. RFLP markırları ile türler arasındaki ve

içindeki farklılık kolayca belirlenir (Botstein ve ark., 1980). Güvenilir, eşbaskın (ko-dominat) özellikte olup, polimorfizm oranı orta düzeydedir (Yıldırım ve ark., 2001). Dezavantajı ise analizlerinin pahalı, fazla zaman, işgücü gerektirmesi, fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulmasıdır (Walton, 1993).

1.2.3.2. PCR Tekniğine Dayalı Moleküler Markırlar

PCR'da genetik materyalin çoğaltılması esastır. PCR'ın çalışma prensibi oldukça basit olup, izole edilen hedef genetik materyallerin (DNA veya RNA), spesifik kısa oligonükleotid primerler, ısıya dayanıklı Taq polimeraz enzimi yardımı ile in-vitro koşullarda çoğaltılması esasına dayanır (Arda, 1995).

PCR kaynaklı markır sistemlerinde 10-25 bp uzunluğunda primer olarak adlandırılan oligonükleotidler kullanılır. Bu primerler genomda bağlandıkları yerlerin arasını, eğer 3-4 kb'nin altında olursa 1-1,5 milyon defa çoğaltırlar. PCR kaynaklı polimorfizmin sebebi, kromozom düzeyinde meydana gelen yerleştirme ya da iptal olması, mutasyon nedeniyle oluşan primer yapışma bölgesi kazancı ya da kaybı olabilir. Genomdaki değişik yerlerdeki polimorfizmi bulmak için primerler değişik şekilde tasarlanabilir. Farklı primerler veya primer kombinasyonları kullanılarak farklı markırlar geliştirilebilmektedir. PCR reaksiyonları sırasında kullanılan şartlar, üretilen bantlar ile bantların tekrarlanabilirliğini etkiler. Bunlar DNA ve magnezyum konsantrasyonu ($MgCl_2$), primerlerin DNA dizinine en uygun yapışma sıcaklığı ile primerlerin uzunluğudur (Gülşen ve ark., 2005).

1.2.3.2.1. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) Yöntemi:

RFLP metodundaki zorluklardan dolayı, PCR tekniğinin getirdiği avantajlardan yararlanmak için RAPD tekniği geliştirilmiştir. Sistemin temeli, rasgele tasarlanmış 6-10 baz uzunluğundaki RAPD primerleriyle PCR yapılması ve bireyler arasındaki farklılığın belirlenmesidir (Williams ve ark., 1990).

PCR arasındaki primerler tesadüfî olarak genoma bağlanmakta olup, bağlanılan bölgeler çoğaltılmaktadır. PCR ürünleri, elektroforez edildikten sonra ethidium bromide ile boyanarak oluşan polimorfik bantlar dikkate alınarak bireyler birbirlerinden ayrılmaktadır. Kullanılan her RAPD primeri için oluşan PCR ürünleri iki grup içerisinde incelenmektedir. Birincisi değişken olarak adlandırılırlar ve bunlar nükleotitlerdeki

inversiyon, delesyon (silinme) ve primer bağlanma bölgelerindeki nükleotit değişikliğinden kaynaklanmaktadır. İkincisi, değişken olmayanlar (monomorfik) olarak adlandırılmaktadır (Williams ve ark., 1990).

RAPD analizi temelde basittir. Tekniği kullanmak için dizilim (sekans) analizine gerek yoktur. Uygulanması hızlı ve kolaydır. Çoğaltma işlemi normal PCR koşullarından farklı olmakla birlikte primer bağlanma sıcaklığı çok düşük (35-37 °C) tutulmakta ve tek bir primer kullanılmaktadır. Markırın uygulanmasının PCR temelli olması, Orta ve yüksek polimorfizm göstermesi, hızlı ve kolay olmasının yanı sıra düşük maliyetli olması yönünden avantajlıdır. Dominant markırlar oluşturulması, PCR esnasında yanlış eşleşmelerin oluşu, PCR şartlarındaki küçük bir değişimin bile sonuçları etkilemesi ve laboratuvarlar arasında tekrarlanma probleminde sebep olması tekniğin dezavantajını oluşturmaktadır (Williams ve ark., 1990, Dos Santos ve ark., 1994, Thormann ve ark., 1994).

1.2.3.2.2. AFLP (Çoğaltılan Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi) Yöntemi:

Ebeveynler ve ıslah sonucu elde edilen bireylerin DNA'ları iki restriksiyon enzimiyle (4 baz, 6 baz) kesilmekte olup DNA'nın kesilmesi sonucu oluşan bu DNA parçacıklarına adaptörlerle birleştirme (ligasyon) işlemi uygulanmaktadır. Ligasyon ürünleri birer baz ilave edilmiş primerlerle PCR yapılmakta olup, elde edilen PCR ürünleri 3 baz ilave edilmiş primerlerle (primerlerden birisi radyoaktif ya da fluorescent ile işaretlenmekte) seçici PRC'a tabi tutulmaktadır. PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütülerek oluşan polimorfizme göre sonuçlar değerlendirilmektedir. Tek bir reaksiyonda 30-150 bölge tanımlanabilmesi ve sonuçların tekrarlanabilir olması en önemli avantajını oluşturmaktadır. Dezavantajları ise, pahalı olması, laboratuvar ekipmanlarına gereksinim duyulması ve dominant markır olmasıdır (Vos ve ark., 1995, Ridout ve ark., 1999).

1.2.3.2.3. SSR (Mikrosatellit veya basit dizin tekrarları) Yöntemi:

Mikrosatellitler ökaryotik genomlar boyunca dağılmış, tekrarlı nükleotid dizileridir (1-6 nükleotid). Yüksek yapılı bitkilerin genomlarında çok yaygın olarak bulunurlar. Bitki genomlarında yüksek oranda polimorfizm gösterirler. Hızlı ve kolay uygulanabilir bir tekniktir. Bu markırlar kullanılarak elde edilen polimorfizm, çoğaltılmış bölgedeki tekrarlı nükleotid dizilerinin sayısındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. SSR'ları

çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak, PCR metodu vasıtasıyla bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir (Öner, 2003). Kodominant kalıtım özelliği göstermesi SSR markırları için bir avantaj olurken; pahalı, zaman alıcı olması, fazla miktarda emek gerektirmesi ve yeni markırların geliştirilmesinin güçlüğü en önemli dezavantajlarındandır (Büyükünal ve ark., 2003; Li ve ark., 2001).

1.2.3.2.4. ISSR Yöntemi:

Ters düzenlenmiş yakın aralıklı mikrosatellitlerin arasındaki bölgelerin (100-300 bp) amplifikasyonuna dayanmaktadır. Bu bölgelerin amplifikasyonu için kullanılan 16-18 bp (baz çifti) uzunluğunda tek primerleri içeren çok sayıda basit dizi tekrarları, herhangi bir ISSR motifi ve 5' ya da 3' ucuna bağlanmış tesadüfi seçilmiş nükleotidlere dayanabilir. Ayrıca bağlanmamış primerler de kullanılmaktadır. ISSR'lar genellikle bir reaksiyonda 20-50 ürün çoğaltılabilirler. Bu metodun en büyük avantajı, genomik kütüphanelerin yapım aşamasında pahalı olmayıp, çok fazla zaman gerektirmemesidir. ISSR markırları daha çok dominant kalıtım göstermektedirler. Eğer mikrosatellitlerde primerlerin bağlanma bölgeleri arasındaki mesafe değişmişse nadiren ko-dominant kalıtım gösterirler. ISSR markırları özellikle filogenetik çalışmalar, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi ve kültürlerin tanımlanması çalışmaları için uygundur (Gürkok, 2009).

1.2.3.2.5. SRAP Yöntemi:

SRAP yöntemi, kolay uygulanabilen, güvenilir ve etkin bir yöntemdir. Bu teknik PCR temelli yeni bir markırdır. Genomda kodlanan sekansları hedef alan ve ortalama sayıda ko-dominant markırlar oluşturan SRAP tekniği, iki primer amplifikasyonuna dayanmaktadır. Primerler 17-18 nükleotitten meydana gelmekte olup, bunlardan biri forward (ileri), diğeri ise reverse (ters) primer olarak adlandırılmaktadır. Bu primerlerde 13-14 nükleotitten oluşan bir çekirdek sekans kısmı vardır. Spesifik bir yapısı olmayan 10-11 bazlık dizinin ardından forward primerde CCGG, reverse primerde ise AATT dizini gelmektedir. Bu kısımdan sonra 3 seçici nükleotitten oluşan bölüm bulunmaktadır (Li ve ark., 2001). RAPD markırına göre daha tutarlı sonuçlar veren, AFLP markırlarına göre de daha ucuz ve daha işçilik gerektiren bir markır tekniği olan SRAP yöntemi, genetik haritaların oluşturulmasında, gen etiketlenmesinde, genomik DNA ve cDNA

parmak izinin çıkarılması ve haritaya dayalı klonlama gibi birçok farklı amaca hizmet etmektedir (Li ve ark., 2001).

1.2.3.2.6. STS Yöntemi:

STS yöntemi, PCR reaksiyonu ile güçlendirilen ürünlerin restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ve elektroforezle büyüklüklerine göre ayrılan bu kesilmiş fragmentlerin tespitini içerir. Primerler cDNA veya genomik DNA klonlarından, klonlanan ve DNA zincirleri tespit edilen RAPD ya da ISSR bantlarından elde edilmektedir. (Koniczyn ve ark., 1993; Jarvis ve ark., 1994)

1.2.3.2.7. SCAR Yöntemi:

RAPD ve ISSR yöntemleri gibi markır spesifitesi düşük olan markırların gücü, bu yöntemlerle elde edilen bantların jel üzerinden çıkarılarak, 3' sonlarındaki DNA zincirlerinin tespiti ve bunların daha uzun, dolayısıyla da spesifik primerler olarak PCR reaksiyonlarında kullanılması ile artırılır (Paran ve Michelmore, 1993).

1.3. Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium) Yöntemi:

Bu yöntem, bir populasyonda farklı lokuslarda ki allelerin tesadüfi olmayan ilişkisi olarak tanımlanabilir ve seleksiyon ve genetik yönlenme gibi faktörler tarafından ortaya çıkarılır. F2. F3 ya da geri melezleme populasyonu gibi generasyonlarda bağlantı dengesizliğinin en önemli nedeni ve lokuslar arasındaki fiziksel bağlantıdır. Bu durum klasik bağlantı haritalarının temelini oluşturmuştur (Tanksley, 1993).

İki farklı lokusda ki allelin birlikte bulunma olasılığının, birbirinden bağımsız olarak görülme olasılığının farklı olması durumu olan bağlantı dengesizliği (LD), bir bağlılık durumudur. Populasyon katmanında, genomun değişik pozisyonlarında tespit edilebilir. LD'nin istatistiksel geçerliliği, örneklem boyutuna bağlıdır. LD'nin boyutuyla ilgisi yoktur (Basic Population Genetics).

LD gametik faz dengesizliği, gametik dengesizlik ve allelik ilişki olarak da bilinmektedir. Mutasyon, göç ya da seleksiyonun yokluğunda polimorfik lokuslarda bağlantı denge içinde olacak olup, bunun aksine bağlantı, karışma ve seleksiyon LD'nin seviyesine arttıracaktır (Falconer ve ark., 1996).

LD ve Linkage (bağlantı) terimleri birbirinden farklı olup, Linkage (bağlantı) bir kromozom üzerindeki fiziksel bağlantı aracılığıyla lokusların kalıtsal ilişkisini ifade ederken, LD bir populasyonda alleller arasındaki korelasyonu ifade etmektedir. Sıkı bağlantı LD'nin yüksek düzeyde çalışmasıyla sonuçlanır (Flint-Garcia ve ark., 2003). LD durumundaki farklı lokuslarda bulunan alleller birbirlerine bağlı olarak dölden döle geçmekte olup, bağlantı eşitliği (LE veya linkage equilibrium) durumunda ise farklı lokuslardaki allellerin birbirinden bağımsız olarak kalıtımları söz konusudur (Oraquize ve ark., 2007).

LD haritalama, *Drosophila* ve insan genetik hastalıklarının çalışılmasında karmaşık sonuçlarda kullanılmış olup, son zamanlara kadar bitki sistemlerinde kullanılmamıştır. Büyük oranda populasyon yapısının etkileri nedeniyle bitkisel ve hayvansal sistemlerde görülen karmaşık sonuçlar tekniğinin kullanımını sınırlamaktadır. Gruplar içindeki allellerin eşit olmayan dağılımı ve populasyon tabakalaşmasının varlığı işlevsel olmayan sahte ilişkilere neden olabilir (Knowler ve ark., 1988). Çoğu yabancı bitkide sınırlı gen akışı ve önemli karmaşık ıslah geçmişi germplasm içinde kompleks tabakalaşma oluşturmakta olup, buda ilişki çalışmalarını zorlaştırmaktadır (Sharbel ve ark., 2000).

Son yıllarda dünyada çerezlik kabak bitkisinde genetik akrabalık tespiti çalışmalarında ISSR primerleri başarı ile kullanılmaktadır. Bu çalışmada zengin bir populasyona sahip olan çerezlik kabak bitkisinin moleküler karakterizasyonu yapılarak aralarındaki akrabalık ilişkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, Kayseri ilinde çerezlik kabak tohumu ile ilgili yaşanan sorunlara çözüm bulabilmek amacıyla çiftçi kaynaklarında bulunan populasyon içi ve populasyonlar arasındaki varyasyon düzeyi anlaşılmasına çalışılacaktır.

1.4. Kabakgillerde Yapılan Bazı Önceki Çalışmalar

ISSR markırları daha önce yapılan birçok çalışmada kabakgiller kullanılmıştır (Verma ve ark., 2007; Behera ve ark., 2008; Yang ve ark., 2010; Dje ve ark., 2010).

Katzir ve ark. (2000), *C. pepo*'nun 28 genotipini karşılaştırılmak için Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) multilocus marker sistemi kullanılmıştır. Çalışmada, iki ana küme gözlenmiş, ayrıca diğer bazı önemli özellikler bakımından anlamlı

gruplamalar üretilmiştir. Bu çalışma ile SSR markırlarının *C. pepo* içindeki tür içi ilişkileri anlamak için kullanılabilceğini gösterilmiştir.

Paris ve ark. (2004), *Cucurbitaceae*'nin ekonomik öneme sahip *Cucurbita* cinsine ait bal kabağı su kabağı, sakız kabağı türlerinin genetik ilişkilerini, AFLP, ISSR ve SSR markırlarını kullanarak analiz etmişlerdir. Bu üç markır sisteminin benzerlik matrisleri arasında yüksek düzeyde korelasyon bulunmuş olup, korelasyon katsayıları AFLP ve ISSR matrisleri arasında 0.95, AFLP ve SSR arasında 0.78 ve ISSR ve SSR arasında 0.77 olarak belirlenmiştir. Genel olarak, kümeleme ve alt kümeleme iki yüksek poligenik özellikle meyve boyu şekliyle çok uyumlu bulunmuştur. Hemen hemen tüm karşılaştırmalarda grup içi genetik farklılık gruplar arası genetik farklılıklardan daha az bulunmuştur. Küçük meyveli genotip "miniatur ball". *C. pepo* içerisinde merkezi bir pozisyonda yer almıştır.

Sestili ve ark. (2011), Güney İtalya'dan toplanan 13 kavun populasyonu arasındaki genetik ilişkiler 100 ISSR primeri ve 15 morfolojik özellik kullanılarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada kullanılan 100 ISSR primerinin 39'undan toplam 358 polimorfik bant elde edilmiştir. Mantel testi, kavun ekotipleri arasındaki genetik ilişkileri tespit etmede morfolojik ve moleküler veriler arasında düşük düzeyde korelasyon olduğunu ortaya koymuştur ($r = 0.50$).

Yıldız ve ark. (2011) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 63 Türkiye menşeli kavun (*Cucumis melo* L.) genotipi ile yabancı 19 kavun genotipi arasındaki genetik ilişkileri karşılaştırmışlardır. Çalışmada, toplam 162 polimorfik markır elde edilmiş kavun genotipleri arasındaki genetik benzerliği tanımlamak için kullanılmıştır. Grup içi genetik benzerlikler 0.46 ile 0.96 arasında değişmiştir. Benzer bölgelerden toplanan ilgili genotipler veya genotipler benzer kümelere bölünmüştür. Güneydoğu Anadolu genotipleri grup inodorus ve grup cantalupensis (tatlı) genotiplerinden ayrı olarak belirginleşmiştir. Bu sonuç, Türkiye'nin kavun ikincil genetik çeşitlilik merkezindeki konumunu ortaya koymuştur.

İnan ve ark. (2012), bazı *Cucurbita* genotiplerinin kabuksuz tohumlarında dahil olmak üzere moleküler karakterizasyonu için ISSR ve SRAP tekniklerinin etkinliğini belirlemişlerdir. Çalışmada, bitki materyali, *C. pepo*'ya ait 16 genotip ve *Cucurbita moschata* Duchesne'ye ait 4 genotip ve *Cucurbita maxima* Duchesne'ye ait 4

genotip kullanılmıştır. Sekiz ISSR primeri kullanılarak 60 bant elde edilmiştir. SRAP çalışmasında ise 8 primer kombinasyonu kullanılarak toplam 71 bant elde edilmiştir. ISSR analizinde genetik benzerlik katsayıları 0.07 ve 0.96 arasında değişmişirken SRAP'da 0.13 ile 1.0 arasında değişmiştir. ISSR ve SRAP genetik benzerlik dataları arasındaki korelasyon katsayısı çok yüksek çıkmıştır ($r = 0.947$).

Rodrigues ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 130 *Cucurbita pepo* L. Örneği arasındaki genetik benzerlikler AFLP ve RAPD teknikleri kullanılarak belirlenmiştir. Oldukça yüksek varyasyon (benzerlik katsayısı 0.37) bulunmuştur. Bu çalışma, DNA markırlarının bitki germplazm koleksiyonlarının analiz edilmesinde önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Innark ve ark. (2014) tarafından hıyarlarda yapılan çalışmada 17 ISSR primeri kullanılmış, bunlardan %85 oranında polimorfik bant elde edilmiş olup PIC değerleri 0.12 ile 0.45 arasında değişmiştir.

Karaman ve ark. (2018), *Cucurbitaceae* familyasındaki 12 adet *Momordica charantia* L. arasındaki genetik ilişkileri 15 ISSR primeri ile analiz etmiş ve elde edilen 113 banttan 59 adedinin polimorfik olduğunu belirlemişlerdir.

1.5. Araştırmanın Amacı ve Önemi

Kayseri ilinde yapılan çerezlik kabak yetiştiriciliğinde hibrit ya da standart genotip çeşitleri kullanılmayıp çiftçiler çoğunlukla kendi yetiştirdikleri tohumlardan seçerek tohumluk ihtiyaçlarını karşılamaktadır. Aynı genotip kaynağı içerisindeki varyasyon düzeyi bilinmemektedir. Bu ıslah programlarının tasarımında da oldukça önemlidir. Bu tez çalışması Kayseri ilinde yetiştiriciliği yapılan farklı genotip kaynaklarında varyasyon düzeyini araştırmak, genetik ilişkileri tespit etmek ve bağlantı eşitsizliğini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması kapsamında, 2014 yılında Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait Laboratuarlarda yürütülmüştür.

2.1. Materyal

2.1.1. Bitki Materyali

Kayseri ilinin Develi, Yeşilhisar ve Tomarza ilçelerinden temin edilen 14 farklı populasyon ile ilk harfi 2D' ile başlayan dış guruplardan oluşan 140 çerezlik kabak genotip fidelerinden elde edilen DNA'lar tez projesi kapsamında kullanılmıştır. Ele alınan Kayseri İlinin Develi, Yeşilhisar ve Tomarza ilçelerinden temin edilen çerezlik kabak genotiplerinin tohumları bez keseler içerisinde 2014 yılı Şubat ayında Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesine getirilmiştir. Bu tohumların listesi aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.1). Bu tabloda 1- ile başlayan genotipler 1 nolu çiftçiden, 2- ile başlayan genotipler 2 nolu çiftçiden temin edilmiş olup, bu 140'a kadar devam etmektedir. Ayrıca kontrol amaçlı akraba gruplar çalışmaya dahil edilmiştir. Bunların listesi ve isimlendirilmesi aşağıdaki gibidir:

D26: Su Kabağı (Develi/Kayseri)

D28: Kestane Kabağı (Adıyaman)

D34: Çerezlik kabak (Kayseri)

D36: Kudret narı

D27: Süs Kabağı (Yozgat)

D29: Bal Kabağı (Nevşehir)

D35: Karpuz (Ticari)

D37: Karpuz (Ticari)

Çizelge 2.1. Kullanılan bitkisel materyal listesi

| Genotip Sıra No | Genotip Adı | Genotip Sıra No | Genotip Adı | Genotip Sıra No | Genotip Adı | Genotip Sıra No | Genotip Adı | Genotip Sıra No | Genotip Adı |
|-----------------|-------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|
| 1 | 1-1 | 32 | 5-4 | 63 | 9-8 | 94 | 14-2 | 125 | 21-3 |
| 2 | 1-2 | 33 | 5-5 | 64 | 9-9 | 95 | 14-3 | 126 | 21-4 |
| 3 | 1-3 | 34 | 5-6 | 65 | 9-10 | 96 | 14-4 | 127 | 21-5 |
| 4 | 1-4 | 35 | 5-7 | 66 | 10-1 | 97 | 14-5 | 128 | 21-6 |
| 5 | 1-5 | 36 | 5-8 | 67 | 10-2 | 98 | 14-6 | 129 | 21-7 |
| 6 | 1-6 | 37 | 5-9 | 68 | 10-3 | 99 | 14-7 | 130 | 21-8 |
| 7 | 1-7 | 38 | 5-10 | 69 | 10-4 | 100 | 14-8 | 131 | 21-9 |
| 8 | 1-8 | 39 | 6-1 | 70 | 10-5 | 101 | 14-9 | 132 | 21-10 |
| 9 | 1-9 | 40 | 6-2 | 71 | 10-6 | 102 | 14-10 | 133 | D26 |
| 10 | 2-1 | 41 | 6-3 | 72 | 10-7 | 103 | 15-1 | 134 | D27 |
| 11 | 2-2 | 42 | 6-4 | 73 | 10-8 | 104 | 15-2 | 135 | D28 |
| 12 | 2-3 | 43 | 6-5 | 74 | 12-1 | 105 | 15-3 | 136 | D29 |
| 13 | 2-4 | 44 | 6-6 | 75 | 12-2 | 106 | 15-4 | 137 | D34 |
| 14 | 2-5 | 45 | 6-7 | 76 | 12-3 | 107 | 15-5 | 138 | D35 |
| 15 | 2-6 | 46 | 7-1 | 77 | 12-4 | 108 | 15-6 | 139 | D36 |
| 16 | 2-7 | 47 | 7-2 | 78 | 12-5 | 109 | 15-7 | 140 | D37 |
| 17 | 2-8 | 48 | 7-3 | 79 | 12-6 | 110 | 15-8 | | |
| 18 | 2-9 | 49 | 7-4 | 80 | 12-7 | 111 | 15-9 | | |
| 19 | 2-10 | 50 | 7-5 | 81 | 12-8 | 112 | 15-10 | | |
| 20 | 3-1 | 51 | 7-6 | 82 | 12-9 | 113 | 20-1 | | |
| 21 | 3-2 | 52 | 7-7 | 83 | 13-1 | 114 | 20-2 | | |
| 22 | 3-3 | 53 | 7-8 | 84 | 13-2 | 115 | 20-3 | | |
| 23 | 3-4 | 54 | 7-9 | 85 | 13-3 | 116 | 20-4 | | |
| 24 | 3-5 | 55 | 7-10 | 86 | 13-4 | 117 | 20-5 | | |
| 25 | 3-6 | 56 | 9-1 | 87 | 13-5 | 118 | 20-6 | | |
| 26 | 3-7 | 57 | 9-2 | 88 | 13-6 | 119 | 20-7 | | |
| 27 | 3-8 | 58 | 9-3 | 89 | 13-7 | 120 | 20-8 | | |
| 28 | 3-9 | 59 | 9-4 | 90 | 13-8 | 121 | 20-9 | | |
| 29 | 3-10 | 60 | 9-5 | 91 | 13-9 | 122 | 20-10 | | |
| 30 | 5-1 | 61 | 9-6 | 92 | 13-10 | 123 | 21-1 | | |
| 31 | 5-3 | 62 | 9-7 | 93 | 14-1 | 124 | 21-2 | | |



Şekil 2.1 Primerlerin görüntüleri

2.1.2. ISSR Primerleri

ISSR analizleri için Çizelge 2.2’de listelenen 20 adet ISSR primerinden analizde 18 primer kullanılmıştır.

Çizelge 2.2. Bu çalışma çerçevesinde kullanılan primer adı, sekansı ve kullanılan bazı sembollerin anlamları

| Primer Adı | Sekansı (5'>>3') | DNA Dışındaki Kodlar | Analizde Kullanılan Primerler (*) |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------------|
| DBDA(CA) ₇ | DBDACACACACACACA | D=A,G,T, B=C,G,T | * |
| (CT) ₈ TG | CTCTCTCTCTCTCTTG | | * |
| (GT) ₈ YA | GTGTGTGTGTGTGTGYA | Y=C,T | * |
| (CA) ₈ R | CACACACACACACAR | R=A,G | * |
| VHVG(TG) ₇ | VHVG(TG) ₇ | V=A,C,G, H=A,C,T | * |

| | | | |
|------------------------|--------------------------|---------------------|---|
| (TCC) ₅ RY | TCCTCCTCCTCCTCCRY | R=A,G, Y=C,T | * |
| HVH(CA) ₇ T | HVHCACACACACACACAT | H=A,C,T, V=A,C,G | * |
| (AG) ₇ YC | AGAGAGAGAGAGAGYC | Y=C,T | * |
| HVH(TCC) ₇ | HVHTCCTCCTCCTCCTCCTCC | H=A,C,T, V=A,C,G | * |
| (CAC) ₃ G C | CACCACCACGC | | * |
| (GT) ₆ GG | GTGTGTGTGTGTGG | // | * |
| (AGC) ₆ G | AGCAGCAGCAGCAGCAGCG | | * |
| (TAA) ₈ | TAATAATAATAATAATAATAATAA | | * |
| BDB(CA) ₇ C | BDBCACACACACACACAC | B=C,G,T, D=A,G,T | * |
| (GACA) ₄ | GACAGACAGACAGACA | // | * |
| (AG) ₈ T | AGAGAGAGAGAGAGAGT | | * |
| (GA) ₈ YG | GAGAGAGAGAGAGAGAYG | Y=C,T | * |
| (CA) ₆ AC | CACACACACACAAC | | * |
| (CAC) ₆ | CACCACCACCACCACCAC | | * |
| (GAA) ₆ | GAAGAAGAAGAAGAAGAA | | * |

2.2. Yöntem

2.2.1. Bitki Materyalinin Eldesi

Moleküler karakterizasyon için serada yetiştirilen bitkilerdeki genç yapraklar kullanılmıştır. Bunun için her genotipten 10'ar tohum ekilerek hasat döneminde o bitkiyi temsil eden bir tek DNA izolasyonu için alınan genç yapraklar DNA izolasyonuna kadar -80 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu ve Protokolü

Çalışmada, Gülşen ve ark., (2005) tarafından modifiye edilmiş olan Doyle ve Doyle'nin (1987) CTAB toplam DNA ekstraksiyon protokolü uygulanmış olup, her genotip 30 mg

genç bitki dokusu kullanılmıştır. Bu yöntemde yaklaşık 30 mg genç yaprak havanda ezildikten sonra 2.0 ml'lik tüplere konulmuş ve 1.2 ml ekstraksiyon bufferini ilave edilerek örnekler, sıcaklığı 65°C ye ayarlanmış olan su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. İçerisinde yaprak örnekleri bulunan 2.0 ml'lik tüpler her 10 dakikada bir hafifçe çalkalanmıştır. Bu işlem bir saat boyunca devam edilmiş olup, örnekler su banyosundan çıkarıldıktan sonra oda koşullarında beş on dakika bekletilerek ısısının düşmesi sağlanmıştır. Sonra tüplere 300 µl cloroform: octanol (24:1 hacim) çözeltisi ilave edilmiş olup, tüpler oda koşullarında her 2-3 dakikada bir hafifçe onbeş dakika boyunca çalkalanmıştır. İçinde yaprak örneği, 300 µl cloroform: octanol (24:1 hacim) çözeltisi bulunan tüpler daha sonra 14000 rpm'de beş dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj olan örneklerin üst fazları alınarak yeni 1.5 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Yeni tüplere aktarılan üst fazların üzerine daha kaliteli DNA elde edebilmek için tekrar 500 cloroform: octanol (24:1) çözeltisi eklenip oda koşullarında hafifçe on dakika çalkalanarak, tekrardan 14000 rpm'de beş dakika santrifüj edildikten sonra, tekrar 500 cloroform: octanol (24:1) çözeltisi ilave edilerek ve yavaşça ters-tüz yaparak karıştırılıp 14000 rpm'de beş dk santrifüj edilmiştir. Sulu kısmı pipetle üst fazı çekilip temiz 1.5 ml lik bir tüpe yeniden aktarılmıştır. Üzerine soğuk (-20°C'de bekletilmiş) isopropanol ilave edilmiş olup, bu aşamada tüpler 14000 rpm'de iki dk çalkalanarak DNA'nın çökmesi sağlanmıştır. DNA'nın daha iyi çökmesini sağlamak için örnekler bir iki saat -20°C'de bekletilmiştir. Tüplerin içindeki isopropanol boşaltıldıktan sonra tüpün içine, kalan beyaz çökeltinin üzerine 500 yıkama çözeltisini (%76 EtOH, 10 mM amonyum asetat) ilave edilerek oda sıcaklığında on dakika bekletip, 14000 rpm'de üç dk. santrifüj yapıp ve sıvı kısmı uzaklaştırılmış olup, DNA'nın yıkanması sağlanmıştır. Beyaz çökelek tamamen kuruyuncaya kadar çeker ocağa bekletilip beyaz çökelti üzerine 300 ul TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilmiştir. DNA konsantrasyonları %1,0'lik agaroz jel kullanarak belirlenmiştir. İzolasyon sonucu elde edilen DNA'lar 20 ng/l ayarlanarak genotiplerin tespiti amacıyla agaroz jel ile analizlerde kullanılmıştır.

2.2.3. DNA Miktarı

Reaksiyonlarda kullanılacak olan DNA'ların temizliği ve miktarı reaksiyon verimliliği açısından son derece önemlidir. İzolasyon sonrası DNA konsantrasyonu %1'lik agaroz jel ile ölçülerek 10 ng/-l olarak ayarlanmıştır.

2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Uygun reaksiyon koşullarını saptamak için genomik DNA ve MgCl₂ konsantrasyonları optimize edilerek, reaksiyonlar PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları için her tüp 15 l olacak şekilde ayarlama yapılmıştır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. ISSR analizleri PCR reaksiyon karışımı.

| PCR Bileşenleri | Her Örnek İçin Kullanılan Miktar (µl) |
|---------------------|---------------------------------------|
| Su | 8.47 |
| Buffer | 1.5 |
| Magnezyum | 1.3 |
| dNTP | 0.33 |
| TAG | 0.4 |
| Primer | Her birisinden 1'er µl |
| DNA | 2 |
| TOPLAM HACİM | 15 µl |

Bütün PCR reaksiyonları beş basamakta gerçekleşmiş olup, basamak ve detayları Çizelge 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.2. DNA'ların PCR için hazırlanması

Çizelge 2.4. PCR döngüsü

| Basamaklar | Sıcaklık / Süre / Döngü |
|-----------------|----------------------------|
| Ön Denatürasyon | 94 °C / 2 dk / 1 döngü |
| Denatürasyon | 94 °C / 1 dk / 34 döngü |
| Yapışma | 40-53 °C / 2 dk / 34 döngü |
| Uzama | 72 °C / 2 dk / 34 döngü |
| Son Uzama | 72 °C / 5 dk / 1 döngü |
| Bekleme | +4 °C |

2.2.5. Agaroz Jel Elektrofrezisi

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde 110 Volt ile 4-6 saat süresince büyüklüklerine göre ayrılmıştır. Ayrışan bantların büyüklüğünü belirlemek için 100-3000 baz çifti aralığında DNA markırları kullanılmıştır. Jel konsantrasyonu 0.5 g/ml olan etidyum bromür ile boyanarak DNA görüntüleme cihazında resimleri çekilmiştir.

2.2.6. Polimorfizmin hesaplanması

Agaroz jelde görüntülenen bantların her biri “1”, “0” veya “9” olarak kaydedilmiş olup;

1: Bandın varlığını

0: Bandın olmadığını

9: Değerlendirilemeyen bantları göstermektedir.

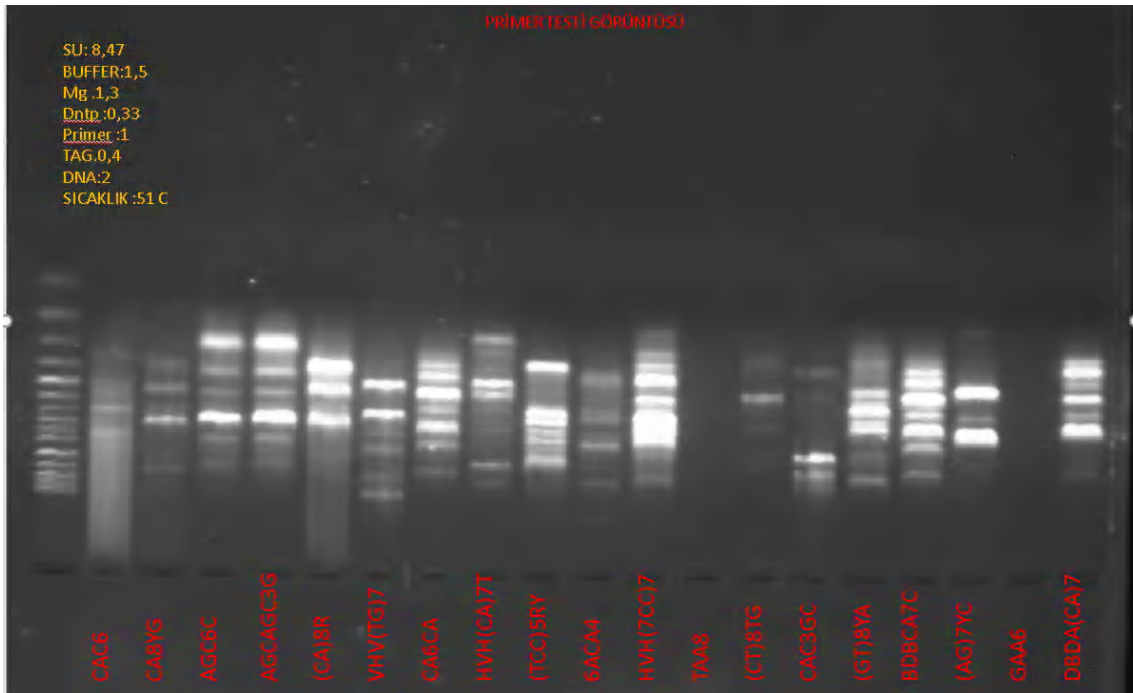
Veriler NTSYS-pc (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) version 2.11 paket programı (Rohlf, 2000) ile değerlendirilmiştir. DICE analizi ile öncelikle bireyler arasındaki benzerlik indeksleri hesaplanmıştır (Dice, 1945). Benzerlik indekslerinden yararlanılarak UPGMA metodu ile dendrogram oluşturulmuştur. Neighbour-joining Analizi ile genotipler arasındaki uzaklığı yani benzememezlik durumunu ortaya çıkarmak amacıyla farklılık matrisi kullanılarak NTSYS programı vasıtasıyla Neighbour-joining dendrogramı (NJ) elde edilmiştir. Genetik çeşitliliği farklı hiyerarşik düzeylerde (populasyonlar arası ve populasyonlar içi) incelemek amacıyla AMOVA analizleri yapılmıştır. Ayrıca çalışılan çerezlik kabak populasyonlarında tespit edilen markırlar arasında tesadüfi olmayan bağlantıları tespit edebilmek için bağlantı dengesizliği (LD) analizleri yapılmıştır.

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Primer Testleri

Sadece primer testleri için 5 adet rasgele seçilen çerezlik kabak genotiplerine ait DNA örnekleri eşit oranda alınarak karışım (bulk) DNA hazırlanmıştır. Şekil 3.1’de gösterilen primer testleri bu karışım DNA ile yapılmıştır. Bu testlemenin amacı sentezi yaptırılan işaretlenmiş primerlerin çalışıp çalışmadığını anlamaktır. Sonuç olarak test edilen 20 primerden 18 tanesi (DBDA(CA)₇, (CT)₈TG, (GT)₈YA, (CA)₈R, VHVG(TG)₇, (TCC)₅RY, HVH(CA)₇T, (AG)₇YC, HVH(TCC)₇, (CAC)₃G C, (GT)₆GG, (AGC)₆G, BDB(CA)₇C, (GACA)₄, (AG)₈T, (GA)₈YG, (CA)₆AC, (CAC)₆) skorlanabilir bantlar üreterek, seçilen 140 çerezlik kabak genotipine uygulanabilir bulunmuştur.



Şekil 3.1. Yirmi adet primer test görüntüsü

3.2. Çerezlik Kabak Genotiplerinin Karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında yer alan 140 adet çerezlik kabak genotipi arasında genetik çeşitlilik toplam olarak 20 adet ISSR primeri ile araştırılmış olup, bunlardan yüksek amplifikasyon gösteren 18 primer ile çalışmalara devam edilmiştir.

Jel görüntüleme işlemi sonrasında görüntülere bakılarak bantların varlığı durumunda "1", yokluğu durumunda "0" ve amplifikasyonun olmadığı durumlarda kayıp verilere "9" değerleri girilerek skorlama yapılmış olup, skorlama sonucunda elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) ve polimorfizm oranı (%) olarak Çizelge 3.1 de sunulmuştur. Çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm oranları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

Polimorfizm Oranı (%) = (Polimorfik bant sayısı/ Toplam bant sayısı) x100

İstatistiksel analizler toplamda 188 adet markır elde edilmiş olup bunlardan 182 tanesi polimorfik olarak tespit edilmiştir. Toplam polimorfizm oranı %98 olarak belirlenmiştir. En fazla markır sayısı 17 adet ile (CA)₆AC primerinden elde edilirken en düşük markır sayısı ise 3 tane markır ile (GT)₆GG primerinden elde edilmiştir. Dolayısıyla verimlilik açısından en iyi primer (CA)₆AC olarak tespit edilmiştir. Bu allellerin genel polimorfizm oranı %98 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen toplam allel sayısı bakımından (CA)₆AC lokusu en fazla alleli (17 adet) üretirken, en az sayıda alleli (GT)₆GG lokusu (3 adet) üretmiştir. 140 genotip üzerinde denenen 18 adet primerlerinden çizelge 3.1'te görüldüğü gibi genel olarak primerlerin %75'inde %100 polimorfizm olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada Kayseri ve çevresindeki coğrafi orijinlere sahip genotipleri içeren Kabak koleksiyonundaki polimorfizm oranı oldukça yüksek bulunmuştur (%98). Elde edilen polimorfizm %98 oranı göz önüne alındığında çerezlik kabakta genetik çeşitliliğin ISSR tekniğiyle başarılı bir şekilde analiz edilebileceğini göstermiştir. Singh ve ark. (2007), tarafından yapılan çalışmada *Momordica charantia* L.'da ISSR markırları açısından polimorfizm oranı %78,4 olarak bulunmuştur. Rana ve ark. (2016), tarafından aynı türde yapılan çalışmada ise %86.20 polimorfizm oranı elde edilmiştir. Bu sonuçlar uyum içerisindedir.

Çizelge 3.1 Skorumla sonucunda elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) ve polimorfizm oranı (%) olarak gösterir çizelge.

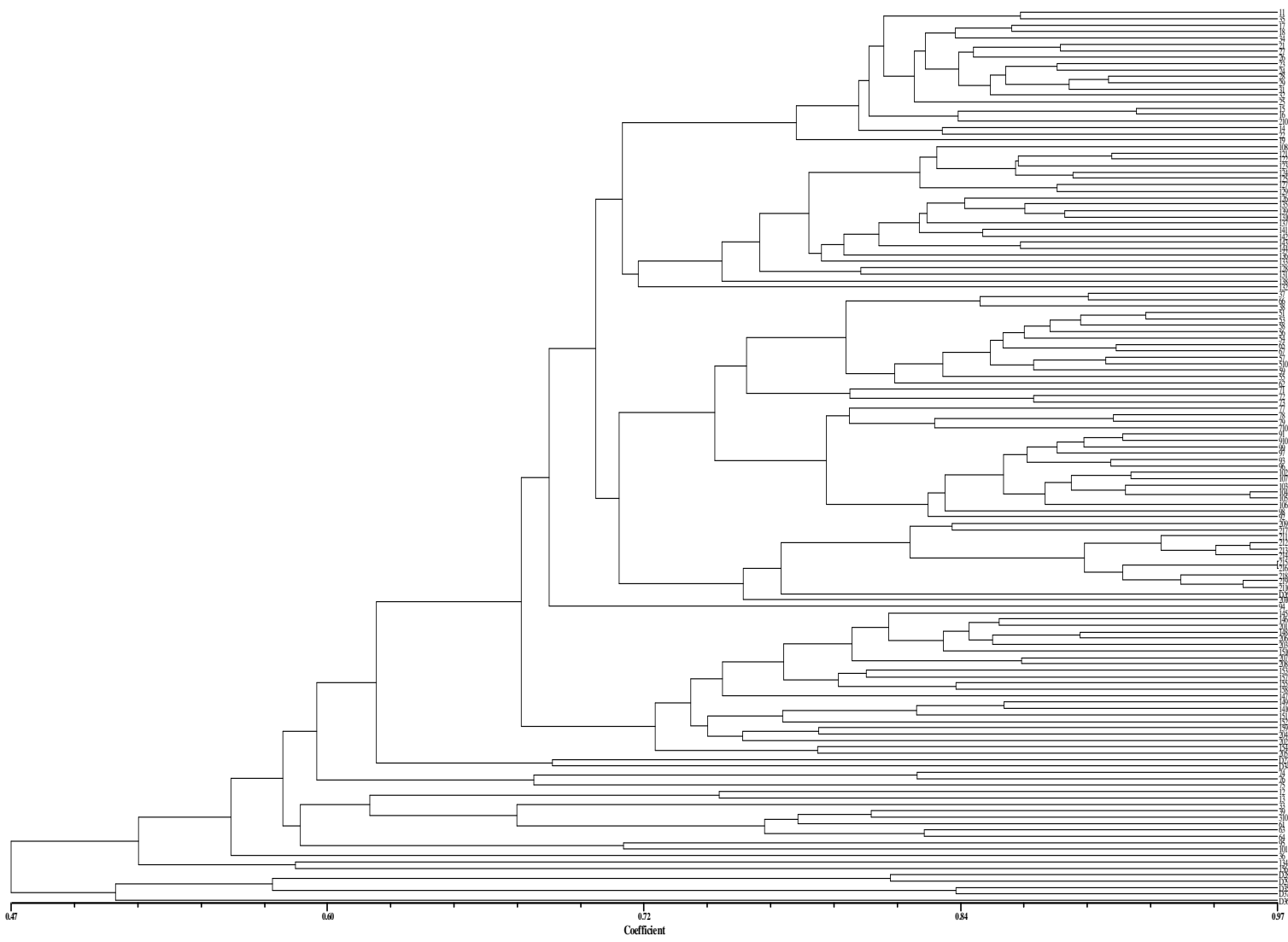
| NO | Primer Adı | Skorlanan bant sayısı | Polimorfik bant sayısı | Polimorfizm oranı |
|----|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|
| 1 | DBDA(CA) ₇ | 9 | 9 | %100 |
| 2 | (CT) ₈ TG | 5 | 5 | %100 |
| 3 | (GT) ₈ YA | 9 | 9 | %100 |
| 4 | (CA) ₈ R | 10 | 10 | %100 |
| 5 | VHVG(TG) ₇ | 10 | 10 | %100 |
| 6 | (TCC) ₅ RY | 9 | 9 | %100 |
| 7 | HVH(CA) ₇ T | 12 | 12 | %100 |
| 8 | (AG) ₇ YC | 10 | 10 | %100 |
| 9 | HVH(TCC) ₇ | 14 | 14 | %100 |
| 10 | (CAC) ₃ G C | 15 | 15 | %100 |
| 11 | (GT) ₆ GG | 3 | 3 | %100 |
| 12 | (AGC) ₆ G | 11 | 10 | %91 |
| 13 | BDB(CA) ₇ C | 14 | 12 | %86 |
| 14 | (GACA) ₄ | 14 | 14 | %100 |
| 15 | (AG) ₈ T | 11 | 11 | %100 |
| 16 | (GA) ₈ YG | 8 | 8 | %100 |
| 17 | (CA) ₆ AC | 17 | 16 | %94 |
| 18 | (CAC) ₆ | 10 | 9 | %90 |
| | TOPLAM | 191 | 186 | |
| | ORTALAMA | 10,6 | 10,3 | %98 |

3.3. Benzerlik İndekslerinin Hesaplanması ve UPGMA Dendrogramın Oluşturulması

Çerezlik kabak genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla yapılan çalışmada elde edilen veriler NTSYS paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. İlk olarak genotipler arasındaki benzerlik indeksi DICE yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. UPGMA dendrogramından anlaşıldığı üzere toplam 140 çerezlik kabak genotipi arasındaki benzerlik indeksi 0.47 ile 0.97 arasında değişmiştir. Ortalama benzerlik kat sayısı 0.72 olmuştur. Belirgin gruplama tespit edilememiştir. En uzak genotipler D36 ile

11 olurken, birbirine en benzer genotipler ise 51 ile 53 numaralı genotip, 104 ile 105, 16 ile 15, 212 ile 213, 219 ile 2110 numaralı genotipler olmuştur. Dış gruptaki bireyler (D26, D27, D28, D29, D34, D35, D36, D37, 38) bizim bireylerden farklı olduğu tespit edilmiştir. İkinci ana grup da üreticilerden toplanan genotipler örneğin, 77, 78, 79, 710, 91, 910, 99, 97, 93, 96, 102, 107, 103, 104, 105, 106, 98 ve 92 genotipler aynı kümelemenin içerisinde yer almış olup, bu istenilen bir özelliktir. Çerezlik kabak bitkisinin monoik bitki yapısına sahip olmasından dolayı tamamen yabancı tozlanmaya açık olduğundan bazı genotipleri kümelerin dışında görüyoruz. Örneğin; 156 ile 134 nolu genotipler bir arada yer almıştır. DICE matriksi ile UPGMA yöntemi kullanılarak yapılan dendrogramın ultrametrik mesafe matriksinin Mantel korelasyon kat sayısı (r) = 0.85 olarak bulunmuştur. Bu değer dendrogramın benzerlik matriksini iyi düzeyde temsil ettiğini göstermektedir (**Mohammadi ve Prasanna, 2003**). Çalışılan yerel genotipler arasında tespit edilen genetik ilişkilerdeki düşük düzeyli yüksek benzerlik değerleri çeşitler arasındaki genetik çeşitliliğin yüksek düzeyde olabileceğini göstermektedir. Bu katsayının 0,9 değerine eşit ve büyük olması durumunda elde edilen dendrogramın benzerlik indeksini çok iyi temsil ettiğini bildirmiştir. (**Mohammadi ve Prasanna, 2003**). **Guliyev ve ark., (2018)** tarafından yapılan çalışmada benzer sonuçlar alınmıştır. En yüksek ve en düşük benzerlik endeksleri sırasıyla 0.97 ve 0.36 olarak tespit edilmiştir.

İnan ve ark. (2012) tarafından *C. pepo* örnekleri arasında genetik ilişkilerin belirlenmesi amacı ile ISSR ve SRAP teknikleriyle yapılan bir çalışmada ISSR analizinde genetik benzerlik katsayıları 0.07 ve 0.96 arasında belirlenirken SRAP markırları için 0.13-1.0 arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim tarafımızdan elde edilen bulgularla uyum içerisindedir. Bizim tarafımızdan elde edilen bulgular bu sonuçlar ile uyum içerisindedir. Bu sonuçlar ile ISSR markırlarının çerezlik kabaklarda genetik ilişkilerin belirlenmesinde başarıyla kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

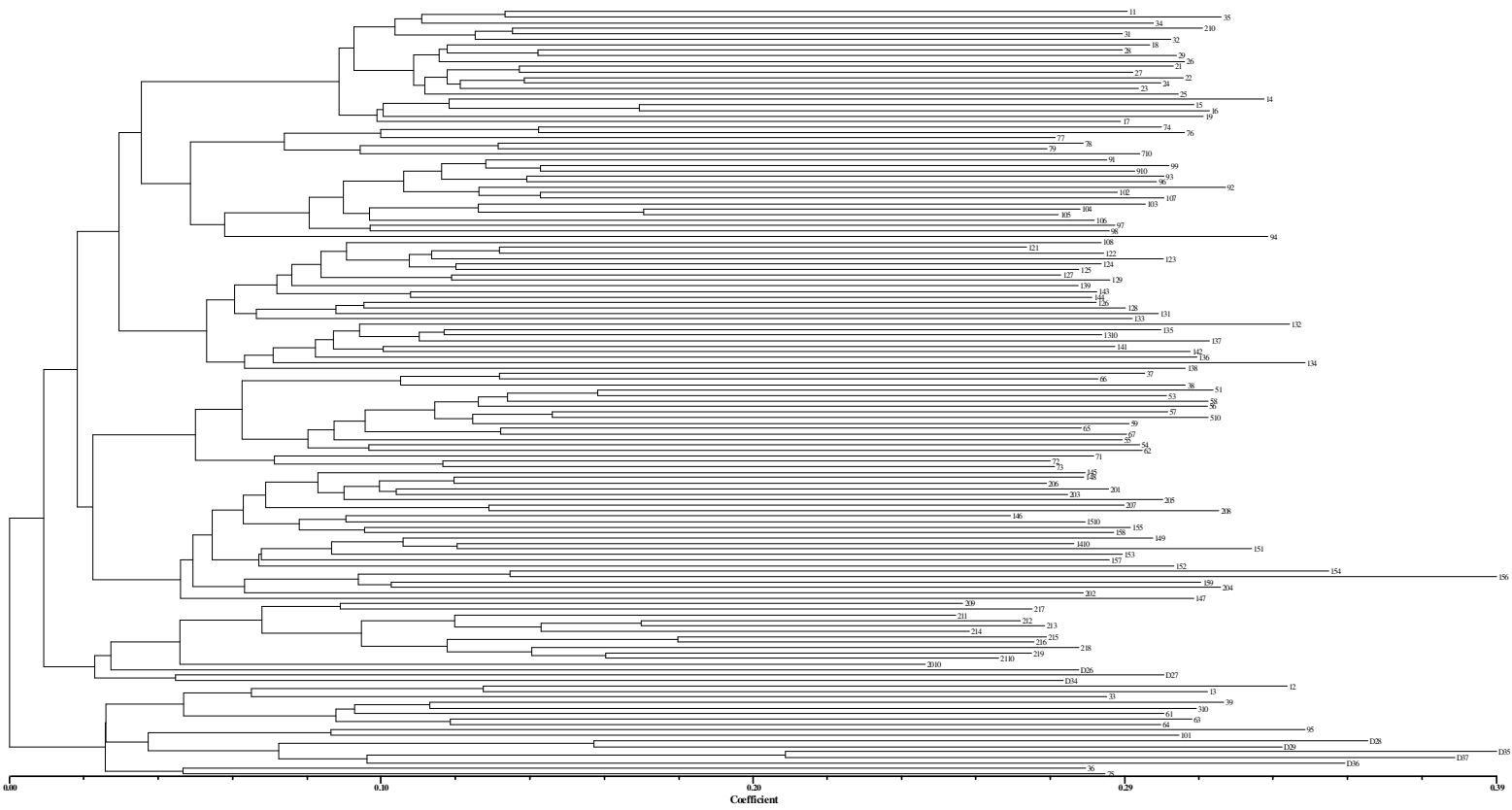


Şekil 3.2. 140 Kabak popülasyonunda DICE benzerlik indeksinden yararlanılarak oluşturulan UPGMA dendrogramı

3.4. ISSR verileri ile ortalama farklılık matrisine göre yapılan neighbour-joining dendrogramının değerlendirilmesi

140 genotip arasındaki NJ analizi yapmak amacıyla ortalama farklılık matrisi kullanılarak NTSYS programı vasıtasıyla neighbour-joining dendrogramı elde edilmiştir. Dendrogramın farklılık matrisi indeks değeri 0.00-0.39 arasında değişmiştir. Şekil 3.3 incelendiğinde ilk göze çarpan faktörler, türler bakımından bir genetik uzaklığın söz konusu olduğu ve dendrogramın 0.00 indeks değerinde 2 ana gruba ayrıldığıdır. Ortalama uzaklık yöntemi ve NJ yöntemine göre elde edilen toplam ağaç uzunlukları 28.7 birimdir. Dendrogram incelendiğinde, türler bakımından bir genetik olarak, birbirine tamamen benzer birey bulunmamıştır. En büyük farklılık 156 ve D35 arasında bulunmuş olup, iki birey arasındaki dal uzunluğu 0.78 olarak belirlenmiştir.

Şekil 3.3. Neighbour-joining analizi ile 140 genotip arasındaki uzaklığı gösterir dendrogram



Şekil 3.3. Neighbour-joining analizi ile 140 kabak genotipi arasındaki uzaklığı gösterir dendrogram aşağıda sunulmuştur.

3.5. ISSR verileri ile yapılan AMOVA (moleküler varyans analizi) test sonuçlarının değerlendirilmesi

Genetik çeşitliliği farklı hiyerarşik düzeylerde (populasyonlar arası ve populasyonlar içi) incelemek amacıyla AMOVA analizleri yapılmıştır. Hazırlanan örnek veri dosyası EK 1 sunulmuştur. Analizler ARLEQUIN 3.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Standart AMOVA testi için toplam 188 lokus kullanılmıştır. Anlamlılık testlerinde tüm analizler için permütasyon sayısı 10.000 olarak belirlenmiştir. Standart AMOVA sonucunda populasyon içi varyasyonun toplam varyasyonun %68,4'ünü açıkladığı tespit edilirken, populasyonlar arası varyasyon ise %31,6'ını açıkladığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, çerezlik kabak ıslah programlarında populasyonlar arası ve populasyonlar içi her iki grup düzeyinde önemsenmesi gerektiğini göstermektedir.

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | Varyasyon Bileşenleri | Varyasyon (%) |
|----------------------------|------------------------|------------------------------|----------------------|
| Populasyonlar arası | 1423.6 | 9.5 | 31.6 |
| Populasyon içi | 2303.5 | 20.4 | 68.4 |
| Toplam | 3727.1 | 29.9 | 100.0 |

ARLEQUIN programı ile yapılmış olup, AMOVA analizleri için sadece kayıp verisi %5'ten daha az olan markırlar hesaplamada kullanıldığından 188 markırdan 99 tanesi hesaplamalara dahil edilmiştir. Hesaplamalara dahil edilen markırlar aşağıda çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. AMOVA analizlerinde kullanılan kayıp verisi %5'in altında olan markır listesi.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
| 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 91 | 92 | |
| 93 | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | 116 | 117 | 118 | 119 | 120 | 121 | 122 | | | |
| 123 | 124 | 125 | 138 | 139 | 140 | 141 | 142 | 143 | 144 | 145 | 146 | 147 | 148 | 149 | 150 | | | |

151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166
167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180

Kayıp verisi %5'ten daha fazla olan markırlar hesaplamada kullanılmadığından 188 markırdan 89 tanesi hesaplamalara dahil edilmemiş olup bunların listesi aşağıda çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Kayıp verisi %5'ten fazla olan markır listesi

26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43
54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71
72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89
90 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 126
127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 181 182 183 184 185
186 187 18

3.6. Kullanılan populasyonlar arası ortalama uzaklıklar

Ortalama uzaklık yöntemine göre ARLEQUİN programı ile hesaplanan uzaklık değerleri aşağıdaki çizelge 3.4'te verilmiştir. Kullanılan populasyonlar arasında ortalama farklılık (average distance) 0.10 ile 0.68 arasında değişmiştir. En büyük (0.68) farklılık 9 ile 14 nolu populasyonlar arasında bulunurken en küçük (0.10) farklılık ise 1 ile 3 ve 10 ile 9 nolu populasyonlar arasında bulunmuş, 14 numaralı populasyon diğer populasyonlardan oldukça farklıdır. Ortalama genetik farklılık ortalaması ise 0.5 olarak hesaplanmıştır. Bu populasyon dış grupları içeren populasyondur ve muhtemelen bu nedenle en farklı populasyon olarak bulunmuştur. Bu sonuç aynı zamanda bizim çalışmamızın etkinliğinin ne kadar yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Dış grup olarak kullanılan populasyonda bulunan genotiplerin açılımı şu şekildedir: D26: Su Kabağı (Develi/Kayseri), D28: Kestane Kabağı (Adıyaman), D34: Çerezlik kabak (Kayseri), D36: Kudret narı, D27: Süs Kabağı (Yozgat), D29: Bal Kabağı (Nevşehir), D35: Karpuz (Ticari), D37: Karpuz (Ticari).

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan 15 adet populasyon arası uzaklıkları gösteren matris

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 15 | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 0.00 | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0.22 | 0.00 | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0.10 | 0.23 | 0.00 | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0.39 | 0.50 | 0.28 | 0.00 | | | | | | | | | | |
| 5 | 0.21 | 0.38 | 0.36 | 0.20 | 0.00 | | | | | | | | | |
| 6 | 0.30 | 0.41 | 0.15 | 0.36 | 0.17 | 0.00 | | | | | | | | |
| 7 | 0.32 | 0.48 | 0.25 | 0.41 | 0.28 | 0.17 | 0.00 | | | | | | | |
| 8 | 0.29 | 0.42 | 0.19 | 0.40 | 0.28 | 0.16 | 0.07 | 0.00 | | | | | | |
| 9 | 0.37 | 0.47 | 0.24 | 0.51 | 0.35 | 0.32 | 0.43 | 0.32 | 0.00 | | | | | |
| 10 | 0.24 | 0.41 | 0.20 | 0.44 | 0.27 | 0.25 | 0.38 | 0.29 | 0.10 | 0.00 | | | | |
| 11 | 0.25 | 0.37 | 0.15 | 0.33 | 0.16 | 0.17 | 0.30 | 0.21 | 0.20 | 0.16 | 0.0 | | | |
| 12 | 0.42 | 0.55 | 0.27 | 0.47 | 0.27 | 0.28 | 0.41 | 0.39 | 0.44 | 0.37 | 0.14 | 0.00 | | |
| 13 | 0.35 | 0.47 | 0.20 | 0.40 | 0.24 | 0.22 | 0.37 | 0.32 | 0.39 | 0.32 | 0.08 | 0.16 | 0.00 | |
| 14 | 0.53 | 0.65 | 0.40 | 0.62 | 0.50 | 0.51 | 0.53 | 0.53 | 0.68 | 0.58 | 0.48 | 0.56 | 0.47 | 0.00 |
| 15 | 0.36 | 0.48 | 0.20 | 0.44 | 0.25 | 0.26 | 0.36 | 0.33 | 0.43 | 0.34 | 0.28 | 0.28 | 0.27 | 0.48 |

3.7. Bağlantı Eşitsizliğinin (Linkage- Disequilibrium) tespit edilmesi

ARLEQİN programı kullanılarak yapılan LD yani bağlantı eşitsizliği analizleri sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

Bağlantı bulunmayan lokus analizine örnekÖrneğin 10 ve 13 nolu lokuslar arasında D , D' , r^2 ve Kikare P değerlerine göre herhangi bir bağlantı bulunamamıştır. Yani aynı kromozom üzerinde değildir. Kikare P değeri 0.05 üzerinde olduğu için (0.3914) önemli değildir.

Lokus 10 ve 13

1: Gözlenen durum tablosu

Lokus 10 \ Lokus 13 | 1 | 0 |

1 | 2 | 0 | 2

0 | 5 | 2 | 7

1 | 7 | 2 |

Toplam gamet sayısı: 9

2: Beklenen Değerler

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|1.56|0.44|

0|5.44|1.56|

3: Bağlantı dengesizliği değerleri ($D=p_{ab}-p_a*p_b$) bütün 2 lokus karşılaştırmaları için

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|0.0494 |-0.0494|

0|-0.0494|0.0494 |

4: standardize edilmiş bağlantı dengesizliği değerleri ($D'=D/D_{max}$)

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|1.0000 |-1.0000|

0|-1.0000|1.0000 |

4: Standartize edilmiş bağlantı eşitsizliği (r^2)

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|0.0816|0.0816|

0|0.0816|0.0816|

5: Kikare değerleri ($Chi^2=sqr(D)*n/(p_a*(1-p_a) *p_b*(1-p_b))$)

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|0.7347|0.7347|

0|0.7347|0.7347|

6: Kikare P değerleri (1 d.f.)

Lokus 10\Lokus 13| 1 | 0 |

1|0.3914|0.3914|

0|0.3914|0.3914|

Bağlantılı lokuslara örnek analiz

Örneğin 2 ve 14 noluluklar arasında D, D', r² ve Kikare P değerlerine göre önemli bir bağlantı bulunmuştur. Yani aynı kromozom üzerinde olduğuna dair kuvvetli bir delil tespit edilmiştir. Kikare P değeri 0.05 altında olduğu için (0.0027) önemlidir.

Lokus 2 ve 14

1: Gözlenen durum tablosu

Lokus2\Lokus14| 1 | 0 |

0 | 7 | 0 | 7

1 | 0 | 2 | 2

1 | 7 | 2 |

Toplam gen sayısı: 9

2: Beklenen Değerler

Lokus2\Lokus 14| 1 | 0 |

0 | 5.44 | 1.56 |

1 | 1.56 | 0.44 |

3: Bağlantı dengesizliği değerleri ($D = p_{ab} - p_a * p_b$) bütün 2 lokus karşılaştırmaları için

Lokus 2\Lokus 14| 1 | 0 |

0 | 0.1728 | -0.1728 |

1 | -0.1728 | 0.1728 |

4: Standartize edilmiş bağlantı dengesizliği (r^2)

Lokus 2\Lokus 14| 1 | 0 |

0 | 1.0000 | -1.0000 |

1 | -1.0000 | 1.0000 |

4: Standartize edilmiş bağlantı dengesizliği (r^2)

Lokus 2\Lokus 14| 1 | 0 |

0 | 1.0000 | 1.0000 |

111.0000011.000001

5: Kikare değerleri ($\chi^2 = \frac{D}{pa*(1-pa) * pb*(1-pb)}$)

Lokus 2\Lokus 14| 1 | 0 |

0|9.00000|9.00000|

1|9.00000|9.00000|

6: Kikare P değerleri (1 d.f.)

Lokus 2\Lokus 14| 1 | 0 |

0|0.00271|0.00271|

1|0.00271|0.00271|

Lokus çiftleri arasında bağlantı olup olmadığı Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Karşılığında '+' işareti bulunan çiftler arasında ARLEQUIN programı tarafından istatistiksel anlamda bağlantı dengesizliği tespit edilmiştir. Poliformik lokus başına bağlantılı lokus sayıları ise Çizelge 3.5'te verilmiştir. Aynı alt türe ait bireylerin oluşturduğu popülasyonda LD değeri düşük bulunmuş olup, zayıf bağlantı mevcuttur. Çerezlik kabak yabancı döllenmiş bir tür olduğu için LD'nin düşük olması beklenen bir olgudur. Benzer bir sonuç Öcal ve ark. (2014) tarafından karpuz bitkisinde rapor edilmiştir.

Table of significant linkage disequilibrium (significance level=0.05):

| Lokus # | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 9 | 10 | 13 | 14 | 19 | 21 | 23 | 25 | 27 | 28 | 43 | 44 | 46 | 48 | 53 | 57 | 58 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 69 | 70 |
|---------|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 2 | * | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 3 | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 5 | - | - | * | + | - | + | - | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 7 | - | - | + | * | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + | - | - | |
| 8 | - | - | - | + | * | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | |
| 9 | - | - | + | - | + | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + | - | - | |
| 10 | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 13 | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 14 | + | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 19 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 21 | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | * | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | |
| 23 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 25 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | * | + | - | - | + | + | - | + | + | - | + | - | - | + | + | - | - | + | |
| 27 | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | * | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | |
| 28 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 43 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 44 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | |
| 46 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | |
| 48 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 53 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | + | + | - | - | - | |
| 57 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | + | + | - | - | - | |
| 58 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| 62 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | + | + | - | - | - | - | |
| 63 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | * | - | - | - | - | - | - | |
| 64 | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | - | * | + | + | - | - | - | |
| 65 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + | - | - | - | + | + | - | + | + | - | - | - | * | + | + | - | - | + | |
| 66 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | * | - | - | - | |

Çizelge 3.4. Önemli Bağlantı Eşitsizlikleri Tablosu (anlamlılık düzeyi=0.05)

Her 77 polimorfik lokus için bağlantılı bulunan lokus sayıları (%5 önem düzeyinde) aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Çizelge 3.5. Poliformik lokus başına bağlantılı lokus sayısı (Anlamlılık düzeyi=0.05)

| Lokus | Yapışma Sayısı | Lokus | Yapışma Sayısı | Lokus | Yapışma Sayısı | Lokus | Yapışma Sayısı |
|-------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|
| 2 | 1 | 53 | 8 | 86 | 4 | 128 | 6 |
| 3 | 4 | 57 | 8 | 87 | 10 | 129 | 9 |
| 5 | 10 | 58 | 0 | 88 | 2 | 130 | 2 |
| 7 | 9 | 62 | 8 | 91 | 9 | 133 | 5 |
| 8 | 9 | 63 | 0 | 93 | 5 | 136 | 7 |
| 9 | 9 | 64 | 16 | 96 | 10 | 137 | 5 |
| 10 | 1 | 65 | 17 | 97 | 17 | 139 | 5 |
| 13 | 10 | 66 | 8 | 98 | 10 | 140 | 19 |
| 14 | 1 | 67 | 10 | 99 | 8 | 142 | 0 |
| 19 | 2 | 68 | 0 | 100 | 11 | 144 | 10 |
| 21 | 10 | 69 | 4 | 117 | 10 | 145 | 10 |
| 23 | 5 | 70 | 10 | 119 | 10 | 148 | 10 |
| 25 | 20 | 78 | 7 | 120 | 10 | 149 | 6 |
| 27 | 10 | 80 | 8 | 121 | 6 | 169 | 9 |
| 28 | 0 | 81 | 9 | 122 | 10 | 171 | 0 |
| 43 | 0 | 82 | 4 | 123 | 7 | 173 | 10 |
| 44 | 8 | 83 | 1 | 124 | 18 | 175 | 8 |
| 46 | 8 | 84 | 0 | 125 | 10 | 176 | 8 |
| 48 | 10 | 85 | 1 | 126 | 11 | 177 | 15 |
| | | | | | | 178 | 16 |

4. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, Kayseri ilinin Develi, Yeşilhisar ve Tomarza ilçelerinden temin edilen 14 farklı populasyon ile ilk harfi 2D' ile başlayan dış guruplardan oluşan 140 çerezlik kabak genotipinin genetik analizi yapılmıştır. Moleküler karakterizasyon çalışmaları taze yaprak örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak gerçekleştirilmiştir. Modifiye edilmiş Doyle ve Doyle'nin (1987), CTAB Toplam DNA ekstraksiyon protokolünden faydalanılmıştır. DNA amplifikasyonu için 18 farklı ISSR primeri kullanılmıştır. Elde edilen veriler NTSYS ve ARLEQUIN programı kullanılarak analiz edilmiştir. NTSYS'le UPGMA ve PCR analizleri diğer programla da populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyon dağılımını görmek için AMOVA analizleriyle ölçülmüştür. Ayrıca çalışılan çerezlik kabak populasyonlarında tespit edilen markırlar arasında tesadüfi olmayan bağlantıları tespit edebilmek için bağlantı eşitsizliği (LD) analizleri yapılmıştır

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

1. Kabak genotipleri arasında genetik çeşitliliğin tespitinde 18 adet ISSR primeri kullanılmış olup, bu primerlerin polimorfizm oranları belirlenmiştir. Toplamda 188 adet markır elde edilmiş olup bunlardan 182 tanesi polimorfik olarak tespit edilmiştir. Çalışılan 18 primerin polimorfizm seviyelerinin %98 ile oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. En fazla markır sayısı 17 adet ile (CA)6AC primerinden elde edilirken en düşük markır sayısı ise 3 tane markır ile (GT)6GG primerinden elde edilmiştir. Dolayısıyla verimlilik açısından en iyi primer (CA)6AC olarak belirlenmiştir.
2. ISSR analizleri sonucunda genotipler arasındaki benzerlik indeksi, bireyler arasındaki benzerlik katsayıları 0.47 ile 0.97 arasında değişmiştir. Ortalama benzerlik kat sayısı 0.72 olarak tespit edilmiştir. En uzak genotipler D36 ile 11 iken,

birbirine en benzer genotipler ise 51 ile 53, 104 ile 105, 16 ile 15, 212 ile 213, 219 ile 2110 olarak belirlenmiştir. Dış gruptaki bireylerin (D26, D27, D28, D29, D34, D35, D36, D37, 38) bizim bireylerimizden farklı olduğu tespit edilmiştir. 140 adet genotipin genetik benzerlik düzeyinin 0.47-0.97 değiştiği ve temelde 2 ana grup oluşturduğu görülmüştür.

3. DICE ve UPGMA yöntemi kullanılarak hesaplanan 140 genotip arasındaki benzerlik matrisi ile dendrogramın ultrametrik mesafe matrisinin Mantel korelasyon kat sayısı (r) = 0.85 olarak bulunmuştur. Bu değer dendrogramın benzerlik matrisini iyi düzeyde temsil ettiğini göstermektedir.
4. 140 genotip arasındaki uzaklığı yani benzememezlik durumunu ortaya çıkarmak amacıyla farklılık matrisi kullanılarak NTSYS programı vasıtasıyla Neighbour-joining dendrogramı elde edilmiştir. Ortalama uzaklık yöntemi ve NJ yöntemine göre elde edilen toplam ağaç uzunlukları 28.7 birimdir. Dendrogram incelendiğinde ilk göze çarpan türler bakımından bir genetik olarak, birbirine tamamen benzer birey bulunmamıştır. En büyük farklılık 156 ve D35 arasında bulunmuş olup, iki birey arasındaki dal uzunluğu 0.78' dir.
5. ARLEQUİN programı ile yapılmış olup, AMOVA analizleri için sadece kayıp verisi %5'ten daha az olan markırlar hesaplamada kullanıldığından 188 markırdan 99 tanesi kullanılan populasyonlar arası uzaklıklar hesaplamalara dahil edilmiştir.
6. Ortalama uzaklık yöntemine göre ARLEQUİN programı ile hesaplanan uzaklık değerleri en büyük (0.65) farklılık 2 ile 14 nolu populasyonlar arasında bulunurken en küçük (0.10) farklılık ise 1 ile 3 nolu populasyonlar arası bulunmuştur.
7. Genetik çeşitliliği farklı hiyerarşik düzeylerde (populasyonlar arası ve populasyonlar içi) incelemek amacıyla AMOVA analizleri yapılmıştır. AMOVA moleküler verileri kullanarak populasyonlar arasındaki farklılaşmayı tahminde bulunmaktadır. Populasyon içi varyasyon toplam varyasyonun %68.4' ünü açıklarken populasyonlar arası varyasyon ise %31.6' mını açıklamıştır. Bu kabak ıslah programlarında her iki grup düzeyinde önemsenmesi gerektiğini göstermektedir.
8. ARLEQUİN programı kullanılarak yapılan LD yani bağlantı eşitsizliği analizleri sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir. Örneğin 10 ve 13 numaralı lokuslar arasında D , D' , r^2 ve Kikare P değerlerine göre herhangi bir bağlantı

bulunamamıştır. Yani aynı kromozom üzerinde değildir. Bu şekilde diğer lokuslar incelenerek P değerine bakılarak herhangi iki lokus arasında bağlantı olup olmadığı öğrenilebilir.

9. ARLEQUİN programı ile bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) ile test yapılmıştır. Poliformik lokus başına bağlantılı lokus sayıları ve populasyonlar için elde edilen önemli bağlantı eşitsizlikleri aynı alt türe ait bireylerin oluşturduğu populasyonda LD değeri düşük bulunmuş olup, zayıf bağlantı mevcuttur. Kabak yabancı döllenmiş bir tür olduğu için LD'nin düşük olması beklenen bir olgudur.
10. ISSR analizlerinde 77 polimorfik lokus için bağlantılı bulunan lokus sayıları (%5 önem düzeyinde), lokus başına düşen toplam allel sayısı 2 ile 8 arasında değişmiştir.
11. Bu çalışma kapsamında, Kayseri ilinin Develi, Yeşilhisar ve Tomarza ilçelerinden temin edilen 140 farklı çerezlik kabak genotipinin genetik analizi ISSR markör tekniği ile araştırılmıştır. Bu çalışmada zengin bir populasyona sahip olan çerezlik kabak bitkisinin moleküler karakterizasyonu yapılarak aralarındaki akrabalık ilişkilerin ortaya konulması amaçlanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada, Kayseri ilinde çerezlik kabakta tohum ile ilgili sorunların çözümünde bu genotiplerin genetik olarak populasyon içi ve populasyonlar arasında yüksek düzeyde polimorfizme sahip oldukları saptanmıştır. Çerezlik kabak hatların tanımlanmasında moleküler verilerin kullanılması gerçek genetik ilişkileri ortaya koymada etkin rol oynayabilir.

KAYNAKÇA

- Aka-Kaçar, Y., (2001). Türkiye’ de Yetiştirilen Önemli Karpuz (*Prunus avium L.*) ve Vişne (*Prunus cerasus L.*) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması, Çukurova Ünivertesi Fen bilimleri Enstitüsü, Kod No: 640, Adana Türkiye.
- Arda, M., (1995). Biyoteknoloji. Kükem derneği Bilimsel Yayınlar, No:1, s:198.
- Ayres, N. M., McClung, A. M., Larkin, P. D., Bligh, H. F. J., Jones, C. A., & Park, W. D. (1997). Microsatellites and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germ plasm. *Theoretical and Applied Genetics*, **94(6-7)**, 773-781.
- Barzegar, R., Peyvast, G., Ahadi, A. M., Rabiei, B., Ebadi, A. A., & Babagolzadeh, A. (2013). Biochemical systematic, population structure and genetic variability studies among Iranian Cucurbita (*Cucurbita pepo L.*) accessions, using genomic SSRs and implications for their breeding potential. **Biochemical systematics and ecology**, **50**, 187-198.
- Behera, T. K., Gaikward, A. B., Singh, A. K., & Staub, J. E. (2008). Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter melon (*Momordica charantia L.*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **88(4)**, 733-737.
- Biles, C. L., Martyn, R. D., Wilson, H. D., (1989). Isozymes and General Proteins from Various Watermelon Cultivars and Tissue Types. **HortScience**, **24**, 810-812.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, **32(3)**, 314.
- Brown, S. M., M. S. Hopkins, S. E. Mitchell, M. L. Senior, Beckmann, J. S., and Soller, M., (1996). Restriction fragment length polymorphism and genetic improvement of agricultural species. **Euphytica**, **35**: 111-124.

- Büyükünal, E. B., (2003). Arpa Mikrosatellitlerinin Ekmeklik Buğdaydaki Genetik Çalışmalar için Kullanım Olanaklarının Araştırılması. **KSÜ Fen ve Mühendislik dergisi**, **6(2)**: 34-40.
- Chadha, M. L., & Lal, T. (1993). Improvement of cucurbits. *advances in Horticulture*, **5**, 137-179.
- Che, K., Liang, C., Wang, Y., Jin, D., Wang, B., (2003). Genetic Assesment of Watermelon Germplasm Using the AFLP Technique. **Hort Science**,**38 (1)**: 81-84.
- Düzeltir, B., & Yanmaz, R. (2004). Kabak çekirdeğinin (*Cucurbita pepo* L.) besin değeri ve sanayide kullanım olanakları. **Popüler Bilim Dergisi**, **11(125)**, 19-24.
- Dje, Y., Tahı, C. G., Bi, A. Z., Baudoin, J. P., & Bertin, P. (2010). Use of ISSR markers to assess genetic diversity of African edible seeded *Citrullus lanatus* landraces. **Scientia horticulturae**, **124(2)**, 159-164.
- Ermiş S., (2010). Ekolojinin kabuklu ve kabuksuz çekirdek kabak (*Cucurbita pepo* L.) hatlarında tohum verimi ve çerezlik kalitesine etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, 153 s.
- Esposito, M. A., Martin, E. A., Cravero, V. P., & Cointry, E. (2007). Characterization of pea accessions by SRAP's markers. **Scientia Horticulturae**, **113(4)**, 329-335.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. 1996 Introduction to quantitative genetics. *Harlow, UK*.
- FAO, 2019 Food and Agricultural Organization Web Page, <http://www.fao.org/statistics/en/>(Erişim tarihi: 30.01.2019).
- Ferrriol, M. 2000. Europeancentral Cucurbits database online taxonomy, Web sitesi. **Web: http://www.comav.upv.es/taxonomy_intro.html**
- Flint-Garcia, S. A., Thornsberry, J. M., & Buckler IV, E. S. (2003). Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual review of plant biology**, **54(1)**, 357-374.
- Guliyev, N., Sharifova, S., Ojaghi, J., Abbasov, M., & Akparov, Z. (2018). Genetic diversity among melon (*Cucumis melo* L.) accessions revealed by

morphological traits and ISSR markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **42(6)**, 393-401.

Gülşen, O., & Mutlu, N. (2005). Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *alatarım*, **4(2)**, 27-37.

Günay, A. 1984. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Cilt III. A.Ü. Ziraat Fakültesi. Çağ Matbaası. Ankara.

Gürkok, T., (2009). Türkiye Doğal Florasında Yetişen Papaver Cinsi Oxytona Sesiyonuna ait Gen Havuzunun ISSR Tekniği ile Genetik Karakterizasyonu, Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Tokat.

Huang, X. X., Hu, J., Wang, Y., Song, S. D., Zhu, Y. F., & Zhu, S. J. (2011). Optimization of ISSR-PCR system for cultivar verification in watermelon (*Citrullus lanatus* var. *Lanatus*). *Seed Science and Technology*, **39(2)**, 293-302.

Inan, N., Yildiz, M., Sensoy, S., Kafkas, S., Abak, K., (2012). Efficacy of Issr and Srap Techniques for Molecular Characterization of Some Cucurbita Genotypes Including Naked (hull-less) Seed Pumpking. *Journal of Animal and Plant Sciences*.**22(1)**: 126-136.

Innark, P., Ratanachan, T., Khanobdee, C., Samipak, S., & Jantasuriyarat, C. (2014). Downy mildew resistant/susceptible cucumber germplasm (*Cucumis sativus* L.) genetic diversity assessment using ISSR markers. *Crop Protection*, **60**, 56-61.

İnan, N. (2008). Çekirdek kabaklarında morfolojik ve moleküler karakterizasyon. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Jannoo, N., Grivet, L., Dookun, A., D'Hont, A., & Glaszmann, J. C. (1999). Linkage disequilibrium among modern sugarcane cultivars. *Theoretical and applied genetics*, **99(6)**, 1053-1060.

- Jarvis, P., Lister, C., Szabo, V., & Dean, C. (1994). Integration of CAPS markers into the RFLP map generated using recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. **Plant molecular biology**, **24**(4), 685-687.
- Jeffrey, C.A., (2005). New system of *Cucurbitaceae* Botanicheskii. **Zhurnal** **90**: 332–335.
- Karaman, K., Dalda-Şekerci, A., Yetişir, H., Gülşen, O., & Coşkun, Ö. F. (2018). Molecular, morphological and biochemical characterization of some Turkish bitter melon (*Momordica charantia* L.) genotypes. **Industrial Crops and Products**, **123**, 93-99.
- Katzir, N., Tadmor, Y., Tzuri, G., Leshzeshen, E., Mozes-Daube, N., Danin-Poleg, Y., & Paris, H. S. (2000, March). Further ISSR and preliminary SSR analysis of relationships among accessions of *Cucurbita pepo*. **In VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding 510** (pp. 433-440).
- Knowler, W. C., Williams, R. C., Pettitt, D. J., & Steinberg, A. G. (1988). Gm3; 5, 13, 14 and type 2 diabetes mellitus: an association in American Indians with genetic admixture. **American journal of human genetics**, **43**(4), 520.
- Konieczny, A., & Ausubel, F. M. (1993). A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. **The plant journal**, **4**(2), 403-410.
- Levi, A., Thomas, C. E., Newman, M., Reddy, O. U. K., Zhang, X., & Xu, Y. (2004). ISSR and AFLP markers differ among American watermelon cultivars with limited genetic diversity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, **129**(4), 553-558.
- Levi, A., Thomas, C. E., Trebitsh, T., Salman, A., King, J., Karalius, J., ... & Zhang, X. (2006). An extended linkage map for watermelon based on SRAP, AFLP, SSR, ISSR, and RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, **131**(3), 393-402.
- Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to

- mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and applied genetics*, **103(2-3)**, 455-461.
- Maleki, M., Shojaeiyan, A., & Rashidi-Monfared, S. (2015, June). Genetic diversity analysis of Iranian melon (*Cucumis melo L.*) accessions using ISSR markers. *In V International Symposium on Cucurbits 1151* (pp. 37-44).
- Marshall, C. W., Shepard, L. D., & Roskruge, N. (2011). Determining the identity of New Zealand kamokamo (*Cucurbita pepo*, *Cucurbitaceae*) using mitochondrial DNA and morphological data. *Agronomy New Zealand*, **41**, 157-166.
- Meksem, K., and Kahl, G., (2005). The Handbook of Plant Genome Mapping, Genetic and Physical Mapping, Wiley-VCH, Weinheim, 380 p.
- Menemencioglu Y.E., Emre U., Candemir A., Gülsen O., "Kayseri'de Çerezlik Kabak Üretiminin Sosyo-Ekonomik, Yetistircilik ve Pazarlama Durumu Açısından İncelenmesi", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, vol.29, pp.220-226, 2014.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M., (2003). Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants-Salient Statistical Tools and Considerations. *Crop Science.*, **43**: 1235-1248
- Navot, N., Zamir, D., (1987) Isozyme and Seed Protein Phylogeny of Genus *Citrullus* (*Cucurbitaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, **156**: 61-67.
- Ocal, N., Akbulut, M., Gulsen, O., Yetisir, H., Solmaz, I., & Sari, N. (2014). Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium among watermelons based on peroxidase gene markers. *Scientia Horticulturae*, **176**, 151-161.
- Oraguzie, N. C., Gardiner, S. E., Rikkerink, E. H., & Silva, H. N. (Eds.). (2007). *Association mapping in plants*. New York: Springer.
- Öner, C., (2003). Genetik Kavramlar. **Palme Yayıncılık**, 795s.

- Özcan, S., Gürel, E., et al., (2004). Bitki Biyoteknolojisi II: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi, Konya, s.349.
- Paran, I., & Michelmore, R. W. (1993). Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical and applied genetics*, **85(8)**, 985-993.
- Paris, H. S., Portnoy, V., Mozes-Daube, N., Tzuri, G., Katzir, N., & Yonash, N. (2002, August). AFLP, ISSR and SSR polymorphisms are in accordance with botanical and cultivated plant taxonomies of the highly polymorphic *Cucurbita pepo*. In *XXVI International Horticultural Congress: IV International Symposium on Taxonomy of Cultivated Plants 634* (pp. 167-173).
- Paris, H. S., Yonash, N., Portnoy, V., Mozes-Daube, N., Tzuri, G., & Katzir, N. (2003). Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*) using DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **106(6)**, 971-978.,
- Provvidenti, R. (1994). Inheritance of a partial chlorophyll deficiency in watermelon activated by low temperatures at the seedling stage. *HortScience*, **29(9)**, 1062-1063.
- Rana, S., & Das, A. B. (2016). Assessment of genetic diversity in 48 landraces of *Momordica dioica* Roxb. ex Willd. from Odisha, India using RAPD and ISSR markers. *The Nucleus*, **59(2)**, 107-114.
- Ridout, C. J., Donini, P., Ridout, C. J., & Donini, P. (1999). Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*, **4(2)**, 76-79.
- Röder, M. S., Plaschke, J., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., & Ganai, M. W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics MGG*, **246(3)**, 327-333.
- Rodrigues, R., Veiga, I., Marreiros, A., Rocha, F., & Leitao, J. (2014). Correction of the misclassification of species in the Portuguese collection of *Cucurbita pepo* L. using DNA markers. *Plant Genetic Resources*, **12(S1)**, S160-S163.

- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., (1989). *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 2nd Edition. Cold Spring Harbor, NY: **Cold Harbor Laboratory Press**, 545 p.
- Dos Santos, J. B., Nienhuis, J., Skroch, P., Tivang, J., & Slocum, M. K. (1994). Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, *87*(8), 909-915.
- Santos, M. H. D., Rodrigues, R., Gonçalves, L. S. A., Sudré, C. P., & Pereira, M. G. (2012). Agrobiodiversity in *Cucurbita* spp. landraces collected in Rio de Janeiro assessed by molecular markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *12*(2), 96-103.
- Sestili, S., Giardini, A., & Ficcadenti, N. (2011). Genetic diversity among Italian melon inodorus (*Cucumis melo* L.) germplasm revealed by ISSR analysis and agronomic traits. *Plant Genetic Resources*, *9* (2), 214-217.
- Sharbel, T. F., Haubold, B., & Mitchell-Olds, T. (2000). Genetic isolation by distance in *Arabidopsis thaliana*: biogeography and postglacial colonization of Europe. *Molecular Ecology*, *9*(12), 2109-2118.
- Singh, A. K., Behera, T. K., Chandel, D., Sharma, P., & Singh, N. K. (2007). Assessing genetic relationships among bitter gourd (*Momordica charantia* L.) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *82* (2), 217-222.
- Soghani, Z. N., Rahimi, M., Nasab, M. A., & Maleki, M. (2018). Grouping and genetic diversity of different watermelon ecotypes based on agro-morphological traits and ISSR marker. *Iheringia. Série Botânica.*, *73* (1), 53-59.
- Solmaz, İ., (2010). Karpuz Genotiplerinin SSR ve SRAP Markörleri ile karakterizasyonu ve *Fusarium Solgunluğu (Fusarium oxysporum f. sp. niveum)*' na Dayanımlarının Klasik ve moleküler Yöntemlerle Araştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Adana. 140 s.

- Staub, J. E., Serquen, F. C., & Gupta, M. (1996). Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, **31**(5), 729-741.
- Tanksley, S. D. (1993). Mapping Polygenes. *Annual Review of Genetics*, **27**: 205-233.
- Tenaillon, M. I., Sawkins, M. C., Long, A. D., Gaut, R. L., Doebley, J. F., & Gaut, B. S. (2001). Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays ssp. mays L.*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**(16), 9161-9166.
- Thormann, C. E., Ferreira, M. E., Camargo, L. E. A., Tivang, J. G., & Osborn, T. C. (1994). Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationships within and among cruciferous species. *Theoretical and Applied Genetics*, **88**(8), 973-980.
- TUIK, 2018 Türkiye İstatistik Kurumu Web Sayfası, www.tuik.gov.tr
- Verma, V. K., Behera, T. K., Munshi, A. D., Parida, S. K., & Mohapatra, T. (2007). Genetic diversity of ash gourd (*Benincasa hispida (Thunb.) Cogn.*) inbred lines based on RAPD and ISSR markers and their hybrid performance. *Scientia horticultrae*, **113**(3), 231-237.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., ... & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, **23**(21), 4407-4414.
- Walton, M., (1993). *MolecularMarkers: WhichonestouseSeed Word*, p:23-29.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, **18**(22), 6531-6535.
- Yang, X., Liu, G., Xu, J. H., Gao, C. Z., & Hou, X. L. (2009, September). Polymorphism Analyses of Watermelon (*Citrullus lanatus*) Mapping Parents Using RAPD and ISSR Molecular Markers. **In IV International Symposium on Cucurbits 871** (pp. 673-680).

- Yanmaz, R., & Düzeltir, B. (2003). Çekirdek kabağı yetiştiriciliği. *Popüler Bilim Dergisi*, *11(123)*, 22-24.
- Yanmaz R. Tuncer B. Yararlı F., (2010). Çekirdek kabağı (*Cucurbita pepo* L) melezlerinin çerezlik performanslarının belirlenmesi. 8. *Sebze Tarımı Sempozyumu*, 23-26 Haziran, Van, 235-240.
- Yanmaz, R., Düzeltir, B., (2010), Çekirdek Kabağı Yetiştiriciliği, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 154 s.
- Yıldırım, A., & Kandemir, N. (2001). Genetik markörler ve analiz metodları. *Bitki Biyoteknolojisi II, Bölüm, 23*, 334-363.
- Yildiz, M., AKGUL, N., & Sensoy, S. (2014). Morphological and molecular characterization of Turkish landraces of *Cucumis melo* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *42(1)*, 51-58.
- Yildiz, M., Ekbic, E., Keles, D., Sensoy, S., & Abak, K. (2011). Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia horticulturae*, *130(1)*, 349-353.

EKLER**EK-1 AMOVA ANALİZLERİ İÇİN HAZIRLANAN "enginAmova27052019.txt" adlı GİRDİ DOSYASI**

11

100110101110011101111101001100000100100000011111000010001100010010000001???00011010000001101111101111111
1100????00101001011101100110011010010110010000001000000011000010101111010???????

12

100110100100001101111101001000000????????1010100000000010000001000001???000101101100011111101000000001
000????00000100000000001000000010100000000????????????00000000100000???????

13

10011110110000110110111010011000000010000011111000001000110001110000001???00011100110111111110111000000
11001110000000100000000001100000010000000000????????????00000100111000???????

14

100111101100011101111011100000000????????111111000010001000011100000101???0001111010111111110011000011
100111000010100100110101011001101001011001100000100011001100001010111110???????

15

100111100100011101111111011000000010000011111000010001100011110100001???00111100110111111111001111111
1100????001011011110010001100110100101100110000010000001110000000011100000110000

16

101111110000101011111110110000010110000011111000010001000011010100001???000111001101111111110011?????
???1111000101101111010101100110100101100110000010110001110000001011110000110000

17

101010100100010101101110110110000010111000011111000010001100011110111001???000111111110011111110010?????
????????001010010010010001000110110101100110000010011100110000001011111010110000

18

10011010011001110110111011011000001011000001111100001000110001110110001110000111010001111011001011111
11000000000101001111010101100100000101100110000010110000110000101011111010110000

19

10011010010001110111110110110000010110000011111000010001100011000000001???00011111110011111111101000001
0000????00101111110000001000010110001100110000010010001110000101011111010111111

21

10011010111001010100010011011000001001000001111100001000110001111010000111000011111100111000011001001110
11001111001010111110101011001101001011001100000100100001100001010111010010110000

22

10011110111001110111101011000000010110000011111000010001000010000000001???000111101000111000011000101110
1000????001010011111010101100110100101100110000010000000110000101011110101000000

23

1001101011100111010111010111000010101000011111000010001000011100100101101001011011000011000011000001001
1100????0010100100110101011001101001011001100000100100001100001010111100010110000

24

1011111011000111011111011011100001011100001111100001000100001100010010111000111111000011001011000111110
110010101001010111110101011101101001011001100000100100001100001010111101010110000

25

100110100100011101101010110110000010110000011111000010001100011110100101110000010110001011000011000011110
10001010100101001011100000000010100101100110000010010000110000101011111010110000

26

100110100110011101101110110111000011111100111110000100011000111101110111000011011110011000011001101111
110010000001010011111010100110110100101100000000100100011110001010111101010110000

27

100110100110011101111010101110000111110000111110000100011000111100000011100001111110011000011000001110
1100101010010100111110101011001101001011001100000100100001100000010011000010110000

28

10011010111001110110111110111000011111000011111000010001100011110100101001000111010000011001111001001110
1100101110010100111110100001110110100101100110000010010000110000101011111010110000

29

10011010011001010111111101110000111100000111110000100011000111011110111100111010001011101111000111110
1110????001010011111010000110110100101100110000010010000110000101011111010110000

210

00111010010001010111111110110000010110000011111000010001100011010011001001001111001010111011110001?????
????101110010100111110110011101101001011001100000100100001100000000010000010110000

31

1011101011100111011111110110000010110010011111000010001100011010111101001000110001000011001111000101101
1100101010010100111110111011001101001011001100000100100001100001010111101010110000

135

010110100100011101011001111111110111110000011100000100011111011111000100100010110110011111111000001111
1100????0010100101110111011111001101011001100000111001011110000010101100011111000

136

0100101000000011010101011111111101110010000011100001000101111011110001001000111110000011011011101001101
11001000000101001011101110111100110101100110000001100001111000000011111011110111

137

110010101101011101011101111111110111011000001110000100011111101000000100100011101101111010011000001110
110010000????????11011100111100110101100100000011100011110101010011001011111001

138

1100101000001111010010000101111110101101000011110000100011111110011100100100011101101111010011000011110
111010011001000000010011100110100110101100100001110100001110000000101111011111000

139

10101010110001010101110111111111011110100011111000010001100010111110011110001011001001110111110000?????
????101110010100111110111001011001111011000000000101001011110000010111101011111000

1310

11001010110001010101110111011111101011010000111100001000111111010000100111000101101101111011111000001111
1100000010010100111110111011111001111011001100000101101011110000010111100011111000

141

110010101100010101011101110111011010110100010111100001000100001111000001111000111111000111111110010?????
????????00101001001101110111110011110110011000001101001011110101000111101011111001

142

1111101000000101010110011101111101011110001011110000100010111101110010011110000010000000110100110010?????
????????????????110111011111001111011001000000101101011110101010111100011110001

143

1110101001000101010111011111110101111000101110000010001000010111000001001000100111100110110110000?????
????????001010011111011101111100110101100100000010110001111000001000000101110000

144

1010101011100101010111011101110000101100000011110000010001000010000000001001????????????10010110010011101
01011100001010011111011101111100110101100100000010100001111????????????10111000

145

100010100010000101101110010110000010100000010111100001000100001????????1110000010000000111010000000101001
10010111001010011111011100000100110101111000010100001011100001010111100010010010

146

1010101001100000011011100101111001110110001111100001000110001????????111????????????11110000000010010
001011100101001011101110000010011010111100001000000001110001010110110011111111

147

1100111011110000011001000101100000101000000111110000100110000????????1110000011100000111110000010??????
?00001111111010100011101100100110101111000110101100011110000000111011011111111

148

10111010111000000010000001011000001010000001111100001000110001????????1110000010100100111110000000111001
000101010010100111110111111010011010111101001010000001110001010111100011111111

149

1000001000000001011000000101100000101000000111110000100011111111????????001111110110000101010000000??????
?11000001011011101011110001000101011000010101001110000000110100011111111

1410

1000001000000001011000000101100000101000000111110000100011111111????????0010010111110010101110000000??????
?1010100101001110101111110100110101111000010101000111000101011110111111111

151

0000001000011101011000000101101110101000100????????100011111111????????0010010110110010111010000010??????
?10000001010011100011111101001101011110000111000000111100000010110111111111

152

0000001000001101011000000101111101111001001111100001000110001????????1110010110110000101110000000??????
?100010010100111000111000001000101011000011100010111100000001100011111000

153

101010100110100000100000010010000010100000011111000010001111110111101001111001001011000011111000001001100
1100100010010100111010111101001000101011110000110000000111000000011101111111111

154

0010100000011000001000000????????????????1111100000????????1101100001001001011000111011111000000????????
????00101101000101111100000111011011000111001001001110000000100100011111111

155

100010101110000000100000011101110111111000111100001001111110110101001111001001100111011111000001000000
1100101010010110111110111001001001101011110000101000100111000101011101111111111

156

0010100000001100001000000????????????????00100000000000111001101000010010010111111001001011110000110011
00????0000010000000111110000001000001000011000100100100000000010100011111111

157

11101010110011000010000001111000101011100001111100001001111111101001001001001001110101011011000000001100
110010001001011011100011100000100110101111000011100000011100010100111011???????

158

1000101011100000010000001011101001111001001111100001000100001010111100111100100111010101111000000010000
110010111001011011111011100100100110101111101001000000001110000000100000011111111

159

0010101000000000010000001001001101011101000111100000100010111101100010010010000011100100101110000000?????
????000000010110111010111110010011010111101001000000101110000000110100111111111

1510

0000101001000001001000000?????????????????111110000100011000100000000011100000011000001011100000000110011
00101110010100111101110001010011010110100110000000011000101011101111111111

201

1110101011100001011001000001100000101000000111100000100010000101110100111100100110000001111000000011100
11001011100101001111011101001001101011110000101000000011000101011011111111111

202

100010100000001101100100000110000010100000001111000001000101111100000001001000110100000010111000000001100
1100101010010100101110111000000101101011111000010100000011100000001100000011111111

203

1010001011101001011011000101100000101000000011111000100010000101011000011110000000000001111110000011100
100010101001010010111011101000100110101101100001010000000110000101011101111111111

204

0111101011000011011011000?????????????????0111000001000111111100100001001000001111010101110000000110011
0000000001010010100011111100100010101111000110010001011100000000000000011111111

205

101010100001110101101100010100000010100000011110000010001000011101100001001001001100010011111000000011100
1100100000010100101110111101010011010110100001111000100110000101011100011111110

206

101010100000000101100100010100000010100000011111000010001000011100000001111?????????????????11110000000011001
00010101001010010111011111010011010110110000101000000011100101011100011111110

207

1010101011100001011011101111100101111001000111100001000100001011000000111100101111100010101000000001100
10001011100101001111101111101000101011011000010100000001100010101110101111010

208

1110101011000001011011111?????????????????00101000001000111110000000001110010101100001010100000000110011
0010111001010011110111001101001101011110000101000000111000101010110101110010

209

1001101011100101110011001011000001011000000111100000100011000101000000??11000000100000010101010000010000
100001101001010011110011010001001101011000000010000000011100000010011001110110000

2010

1000101000000100111001100111100000101100000011110000010001000010110000001001000001001001000000000
100001001001010010111001110000100110101100000001000000001110000101011000011110000

211

1001101011100100111011101111100000101100000011111000010001100010101000001111000110101000010101000000000
100001101001010011110011010101001101011000000010000000011100011010111001111110000

212

10011010111001001110111011111000001011000000011110100100011100101010010011110001101010001101010001000001
11000110100101101111001101010100110101100010001000000011100011010011001111110000

213

10011010111001001110111011111000001111000000111110100100011100101010010011110001110110001110110011000001
100001101001011011110011110101001101011000100010000000011100011010011001111110000

214

10111010111001001110111011111000011110000011111010010001110010101000001111000111110000111010100010?????
????01101001011011110011010101001101011000100010000000011100011010011001111111100

215

100110101110010111011101111110111111000001111101001000111001010100100111100001111110011101010010010001
1100011010010100111110011110101001101011000100010000000011000011010111001111111100

216

1001101011100101111011101?????????????????0111101001000111001?????????11100101111100011101010010010000100
001101001010011111001111000100110101100010?????????????????00110101110011?????????

217

10011010111??000110000001011000001000000000011110000100011100111000000010010000001000000011101010010001001
100001101001011011110011010001001101011000000010000000011100011010001001111100000

218

1001111011100101111011101111110111111011101111101001000111001111101001111000011101101011101010001011001
110001101001011011110011010101001101011000100010000000011100011010011001111111111

EK-2 ARLEQUIN Proje Dosyası

```

# This example make an AMOVA analysis based on a
# haplotypes defined in an external file.
# Data source: Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J., 1992,
# Analysis of molecular variance inferred from metric distances
# among DNA haplotypes: Application to kabaklar engin için ISSR verileri,
# yayınlanmadı YL tezi.
[Profile]
    Title="A Sample File Designed To Compute an AMOVA by computing a distance matrix "
    NbSamples=10
    GenotypicData=0
    LocusSeparator=NONE
    DataType=RFLP

[Data]
[[HaplotypeDefinition]]
    HaplListName="56 human mtDNA RFLPs"
    #Data from Excoffier et al. 1992 Genetics 131:479-491
    HaplList= EXTERN "enginAmova27052019.txt"

[[Samples]]
    SampleName="1"
    SampleSize=9
    SampleData= {
        11 1
        12 1
        13 1
        14 1
        15 1
        16 1
        17 1
        18 1
        19 1
    }
    SampleName="2"
    SampleSize=9
    SampleData= {
        21 1
        22 1
        23 1
        24 1
        25 1
        26 1
        27 1
        28 1
    }
    SampleName="3"
    SampleSize= 10
    SampleData= {
        31 1
        32 1
        33 1
        34 1
        35 1
        36 1
        37 1
        38 1
        39 1
        310 1
    }
    SampleName="5"
    SampleSize=9
    SampleData= {
        51 1
        53 1
        54 1
        55 1
    }

```

```
56 1
57 1
58 1
59 1
510 1
}
SampleName="6"
SampleSize=7
SampleData= {
61 1
62 1
63 1
64 1
65 1
66 1
67 1
}
SampleName="7"
SampleSize=10
SampleData= {
71 1
72 1
73 1
74 1
75 1
76 1
77 1
78 1
79 1
710 1
}
SampleName="9"
SampleSize=10
SampleData= {
91 1
92 1
93 1
94 1
95 1
96 1
97 1
98 1
99 1
910 1
}
SampleName="10"
SampleSize=8
SampleData= {
101 1
102 1
103 1
104 1
105 1
106 1
107 1
108 1
}
SampleName="12"
SampleSize=9
SampleData= {
121 1
122 1
123 1
124 1
125 1
126 1
127 1
```

```
        128 1
        129 1
    }
    SampleName="13"
    SampleSize=10
    SampleData= {
        131 1
        132 1
        133 1
        134 1
        135 1
        136 1
        137 1
        138 1
        139 1
        1310 1
    }
    SampleName="14"
    SampleSize=10
    SampleData= {
        141 1
        142 1
        143 1
        144 1
        145 1
        146 1
        147 1
        148 1
        149 1
        1410 1
    }
    SampleName="15"
    SampleSize=10
    SampleData= {
        151 1
        152 1
        153 1
        154 1
        155 1
        156 1
        157 1
        158 1
        159 1
        1510 1
    }
    SampleName="20"
    SampleSize=10
    SampleData= {
        201 1
        202 1
        203 1
        204 1
        205 1
        206 1
        207 1
        208 1
        209 1
        2010 1
    }
    SampleName="21"
    SampleSize=10
    SampleData= {
        211 1
        212 1
        213 1
        214 1
        215 1
    }
```

```
216 1
217 1
218 1
219 1
2110 1
}
SampleName="DIS"
SampleSize=8
SampleData= {
  D26 1
  D27 1
  D28 1
  D29 1
  D34 1
  D35 1
  D36 1
  D37 1
}
```

#Definition of the group structure:

```
[[Structure]]
StructureName="New Edited Structure"
NbGroups=1
Group={
  "1"
  "2"
  "3"
  "5"
  "6"
  "7"
  "9"
  "10"
  "12"
  "13"
  "14"
  "15"
  "20"
  "21"
  "DIS"
}
```

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Engin Oğuz MORİLİPİNAR
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 19.02.1978- Kayseri
Medeni Durum: Evli
E-mail: e.o.morilipinar@hotmail.com
Yazışma Adresi: Bünyan İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü
 Sağlık Mah. Vergi Dairesi Binası Kat:3 KAYSERİ

EĞİTİM

| Derece | Kurum | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|--|------------------|
| Yüksek Lisans | Üniversite İsmi, Bölüm | Yıl |
| Lisans | Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim, Bahçe Bitkileri | 2004 |
| Ön Lisans | Erciyes Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçioğlu MYO, Bahçe Ziraatı | 1999 |
| Lise | Kocasinan Atatürk Ticaret Meslek Lisesi KAYSERİ | 1996 |

İŞ DENEYİMLERİ

| Yıl | Kurum | Görev |
|------------|--|-------|
| 2017-Halen | Bünyan İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü | 2 |
| 2010-2017 | Felahiye İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü | 7 |

YABANCI DİL

İngilizce