

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMeye DAYANIKLILIK AMACIYLA
OLUŞTURULAN RİL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR
SİSTEMLERİYLE TARANMASI**

Pınar AKKELLE

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMeye DAYANIKLILIK AMACIYLA
OLUŞTURULAN RİL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR
SİSTEMLERİYLE TARANMASI**

Pınar AKKELLE

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMeye DAYANIKLILIK AMACIYLA
OLUŞTURULAN RİL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR
SİSTEMLERİYLE TARANMASI**

**Pınar AKKELLE
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

Bu tez TÜBİTAK tarafından 116O200 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMeye DAYANIKLILIK AMACIYLA
OLUŞTURULAN RİL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR
SİSTEMLERİYLE TARANMASI**

Pınar AKKELLE
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS

Bu tez 11/06/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Ersin POLAT

Doç. Dr. İlknur SOLMAZ

ÖZET

KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMESİNE DAYANIKLILIK AMACIYLA OLUŞTURULAN RIL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR SİSTEMLERİYLE TARANMASI

Pınar AKKELLE

Yüksek Lisans, Bahçe Bitkileri

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Haziran 2018; 75 sayfa

Küllemeye dayanıklılık amacıyla oluşturulan RIL popülasyona ait 138 genotip üzerinde, ana-baba ebeveyn ile bireyler arasındaki genetik ilişkiyi araştırmak amacıyla ISSR, SRAP, SSR, TRAP ve SCAR markörleri kullanılmıştır. 92 ISSR primerinden 12 adet polimorfik primer (14 polimorfik allel), 65 SRAP kombinasyonundan 9 polimorfik primer kombinasyonu (11 polimorfik allel), 116 SSR primerinden 22 adet polimorfik primer (44 polimorfik allel), 26 TRAP kombinasyonundan 5 polimorfik primer kombinasyonu (5 polimorfik allel) ve 5 SCAR primerinden 1 polimorfik primer (2 polimorfik allel) elde edilmiştir.

Analizler sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve dendrogramlar elde edilmiştir. SSR markör sisteminde oluşturulmuş dendrogramda, popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta TKÜ3 (ana ebeveyn), ikinci grupta ise PMR6 (baba ebeveyn) yer almıştır. TRAP ve SRAP markörlerinde de dendrogram iki farklı gruba ayrılmıştır. Ancak SSR markörü bireyleri daha net bir şekilde ayırmıştır. ISSR ve SCAR markörleri ise TKÜ3 ve PMR6'yı birbirinden ayıramamıştır. Tüm markörler birlikte değerlendirildiğinde, benzerlik oranları 0 ile 0,99 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,82 olarak bulunmuştur. Markörlerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda popülasyon genel olarak iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta hassas genotipler yer almış, birbirine en yakın genotipler 0,98 genetik benzerlik oranı H31 ile H32, H7, H8 ile H4, H5 ile H6 bulunmuştur. İkinci grupta ise dayanıklı genotipler yer almış, 0,98 genetik benzerlik oranıyla T56 ile T57 genotipleri birbirine en yakın bulunmuştur. PMR6'ya en yakın genotipin 0,95 genetik benzerlik oranı ile Kül 14-1 (dayanıklı) olduğu tespit edilmiştir. Bu bulguları, Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram ve temel koordinat analizi sonuçları da desteklemiştir.

Araştırma sonuçlarında, SSR haricindeki markör sistemlerini tek başına değerlendirmenin küllemeye hassas ve dayanıklı bireylerin tespit edilmesinde yeterli olmadığı görülmüştür. Bu nedenle ileriki çalışmalarda, daha net sonuçlara ulaşabilmek için kodominant ve dominant markör sistemlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Cucumis melo* L., Kavun, Külleme, Moleküler Markörler, Polimorfizm

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Doç. Dr. İlknur SOLMAZ



ABSTRACT

SCREENING MELON (*Cucumis melo* L.) RIL POPULATION ESTABLISHED FOR RESISTANCE TO POWDERY MILDEW BY DIFFERENT MARKER SYSTEMS

Pınar AKKELLE

MSc Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

June 2018; 75 pages

The ISSR, SRAP, SSR, TRAP and SCAR markers were used to investigate the genetic relationship between parents as well as between parents and 138 genotypes of the RIL population established for resistance to the powdery mildew. A total of 12 polymorphic primers (14 polymorphic alleles) from 92 ISSR primers, 9 polymorphic primer combinations (11 polymorphic alleles) from 65 SRAP combinations, 22 polymorphic primers (44 polymorphic alleles) from 116 SSR primers, 5 polymorphic primer combinations (5 polymorphic alleles) from 26 TRAP combinations and 1 polymorphic primer (2 polymorphic alleles) from 5 SCAR primers were obtained.

As a result of the analyses, clustering analyses were performed by UPGMA method, using similarity index and dendrograms were obtained. In the dendrogram created for the SSR marker system, the population was divided into two different groups, as TKU3 (female parent) in the first group and PMR6 (male parent) in the second group. For the TRAP and SRAP markers, the dendrograms were divided into two different groups. However, the SSR marker clearly distinguished individuals. ISSR and SCAR markers were not able to distinguish the differences between TKU3 and PMR6. When all markers were evaluated together, the similarity ratios ranged from 0 to 0,99, and the matrix correlation (r) was found to be 0,82. As a result of the markers evaluation together, the population was generally divided into two groups. In the first group, susceptible genotypes were included, and the closest genotypes were 0,98 genetically similar to H31, H32, H7, H8 and H4, H5 and H6, while in the second group resistant genotypes were included. T56 and T57 genotypes were found to be the closest to each other with a genetic similarity ratio of 0,98. In the second group the closest genotype to PMR6 was found to be Kül 14-1 (resistant) with a genetic similarity rate of 0,95. These findings were supported by the results of dendrogram and PCO obtained by Neighbour-Joining method.

In the results of the study, evaluating marker systems alone, except SSR, was not sufficient to detect susceptible and resistant individuals. For this reason, it is recommended that codominant and dominant marker systems should be used together to obtain more accurate results in future studies.

KEYWORDS: *Cucumis melo* L., Melon, Molecular Markers, Polymorphism, Powdery Mildew

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Assoc. Prof. Dr. İlknur SOLMAZ



ÖNSÖZ

Ülkemizde külleme hastalığına karşı yerli dayanıklı kavun çeşiti bulunmamaktadır. Bu çeşitlere olan ihtiyaç hala yurtdışından ithalat yoluyla temin edilmektedir. Bu da ülkemizi dışa bağımlı hale getirmektedir. Bu soruna yönelik ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Ancak bu çalışmalar hem zaman alıcı hem de zordur. Bu çalışma ile kavunda küllemeye dayanıklı bir popülasyon oluşturulmuş ve markör sistemleri ile tarama yapılarak dayanıklılıkla ilgili bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgilerin ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarına ve bilim dünyasına katkı sağlayacağını umut ediyorum.

Tez konumun belirlenmesinde beni yönlendiren, her aşamasında her zaman destek olan, bu araştırma konusunda yüksek lisans yapma imkânı veren ve TÜBİTAK projesinden burs almamı sağlayan, çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin savunulmasındaki katkılarından dolayı değerli jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a, Sayın Prof. Dr. Ersin POLAT'a ve Sayın Doç. Dr. İlknur SOLMAZ'a teşekkürlerimi borç bilirim.

116O200 no'lu "PMR6 Kavununun RIL Populasyonunda *Podosphaera xanthii*'nin 1, 2 ve 5 nolu Irklarına Dayanıklılığın QTL Haritalaması ve Dayanımı Yüksek Yerli Çeşitlerin Geliştirilmesi" adlı proje dahilinde tezimin uygulamalarını gerçekleştirme ve burs imkanı sağladığı için TÜBİTAK'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tezimin uygulamalarını gerçekleştirdiğim BATEM'de, bana her zaman her konuda yardımcı olan çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. İlknur POLAT'a, laboratuvarında bana her şeyi öğreten üzerimde çok emeği olan, sadece bilgisi ile değil hayat görüşü ile de hep takdir ettiğim, örnek aldığım canım ablam çok değerli Sayın Dr. Aytül KİTAPÇI'ya, çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen Sayın Görkem SÜLÜ'ye, tez çalışmalarım esnasında tanıdığım, bana her zaman manevi destek olan, çok sevdiğim, Ziraat Yüksek Mühendisi Kübra YILDIZ ve Ziraat Yüksek Mühendisi Tuba SANSUR'a, teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bana her zaman destek olan, hayattaki azmini hep takdir ettiğim, çok sevdiğim sevgili Araştırma Görevlisi F. Burcu ÇELİKLİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, eğitmimi her zaman destekleyen, başarılarımla gurur duyan, canım babam Orhan AKKELLE'ye, sevgili annem Ayşe AKKELLE'ye, çok değerli Elektrik ve Elektronik Yüksek Mühendis canım ağabeyim Hasan AKKELLE'ye ve hep desteğini hissettiğim sevgili nişanlım Uğur DEMİRÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Materyal.....	11
3.2. Metot	12
3.2.1. DNA izolasyonu	12
3.2.2. DNA'nın saflık ve miktarının belirlenmesi	14
3.2.3. PCR çalışmaları	15
3.2.3.1. ISSR analizleri.....	16
3.2.3.2. SRAP analizleri	19
3.2.3.3. SSR analizleri	21
3.2.3.4. TRAP analizleri	27
3.2.3.5. SCAR analizleri	29
3.2.3.6. Agaroz jel elektroforezi	30
3.2.3.7. Primerlerin polimorfizm oranlarının belirlenmesi.....	31
3.2.3.8. Verilerin analizi	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1. ISSR Analizleri Bulguları	32
4.2. SRAP Analizleri Bulguları.....	38
4.3. SSR Analizleri Bulguları	44
4.4. TRAP Analizleri Bulguları	50
4.5. SCAR Analizleri Bulguları	55
4.6. Tüm Markörlerin Birlikte Değerlendirilmesi.....	60
5. SONUÇ	66

6. KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “KAVUNDA (*Cucumis melo* L.) KÜLLEMEYE DAYANIKLILIK AMACIYLA OLUŞTURULAN RİL POPULASYONUNUN FARKLI MARKÖR SİSTEMLERİYLE TARANMASI” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

11/06/2018

Pınar AKKELLE

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

bp : Base pair

cM : Cantimorgan

dk : Dakika

ddH₂O : Distile-Deiyonize Su

g : Gram

ml : Mililitre

mM : Milimolar

ng : Nanogram

rpm : Revolutions Per Minute-Dakikada dönüş sayısı

sn : Saniye

μl : Mikrolitre

°C : Santigrad Derece

Σ : Toplam

% : Yüzde

Kısaltmalar

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi

BATEM : Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü

BC : Backcross

CAPS : Cleaved Amplified Polymorphic

CTAB : Cetil Three Metil Amonyum Bromid

DNA : Deoksiribonükleikasit

EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

EST : Sequence Tagged Site

ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat-Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm
NTSYS	: Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System
OTL	: Quantitative Trait Locus
PCO	: Temel Koordinat Analizi
PCR	: Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	: Polymorphism Information Content
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rasgele oğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism-Sınırlı Para Uzunlukları Polimorfizmi
RIL	: Recombinant Inbred Lines
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism-Sekansa Bağlı oğaltılmış Polimorfizm
SSR	: Simple Sequence Repeat-Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler
TAE	: Tris-Acetate
TRAP	: Telomeric Repeat Amplification Protocol
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average
UV	: Ultraviole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Viyollerde DNA izolasyonu için yetiştirilen genotipler.....	13
Şekil 3.2. a) TissueLyser II (Qiagen) kullanılarak örneklerin ezilmesi; b) Vortex işlemi; c) Örneklerin inkübe edilmesi; d) Santrifüj işlemi; e) Örneklerle isopropanol eklenmesi; f) Peletin kurutulması işlemi.....	14
Şekil 3.3. Bazı genotiplerden elde edilen DNA'ların jel üzerinde görünümü	15
Şekil 3.4. DNA'nın kalitesini ve miktarını belirleyen spektrofotometre aleti	15
Şekil 3.5. a) Agaroz jelin hassas tartı ile tartılması; b) Jelin mikrodalga ile eritilmesi; c) Jelin tanka dökülmesi; d) PCR ürünlerinin elektroforeze yüklenmesi; e) PCR ürünlerinin görüntülendiği ve fotoğraflarının çekildiği cihaz	30
Şekil 4.1. 811 ISSR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)	34
Şekil 4.2. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram	36
Şekil 4.3. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram	37
Şekil 4.4. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik	38
Şekil 4.5. me3-em15 SRAP primer kombinasyonu agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)	40
Şekil 4.6. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram	42
Şekil 4.7. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram	43
Şekil 4.8. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik	44
Şekil 4.9. CMCTT144-8 SSR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)	47
Şekil 4.10. SSR markörü ile ana -baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram	48
Şekil 4.11. SSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram	49

Şekil 4.12. SSR markörü ile ana ebeveyn-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik	50
Şekil 4.13. em3-nrta4 TRAP primer kombinasyonu agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)	52
Şekil 4.14. TRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram	53
Şekil 4.15. TRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram	54
Şekil 4.16. TRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi (PCO) sonucu oluşan grafik	55
Şekil 4.17. SV01574 SCAR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)	56
Şekil 4.18. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram	58
Şekil 4.19. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram	59
Şekil 4.20. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik	60
Şekil 4.21. Ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram.....	63
Şekil 4.22. Ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram.....	64
Şekil 4.23. Ana ebeveyn-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin 1-4 skala değerleri	11
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan markörler ve sayıları	15
Çizelge 3.3. ISSR primerleri ve baz dizilimleri	16
Çizelge 3.4. ISSR analizleri PCR reaksiyon koşulları	18
Çizelge 3.5. SRAP analizlerinde kullanılan forward (ileri) primerleri	19
Çizelge 3.6. SRAP analizlerinde kullanılan reverse (geri) primerleri	19
Çizelge 3.7. SRAP primerleri ile yapılan kombinasyonlar	20
Çizelge 3.8. SRAP analizleri PCR reaksiyon koşulları	20
Çizelge 3.9. SSR primerleri ve baz dizilimleri	21
Çizelge 3.10. SSR analizleri PCR reaksiyon koşulları	26
Çizelge 3.11. TRAP analizlerinde kullanılan forward (ileri) ve reverse (geri) primerleri	27
Çizelge 3.12. TRAP primerleri ile yapılan kombinasyonlar	28
Çizelge 3.13. TRAP analizleri PCR reaksiyon koşulları	28
Çizelge 3.14. SCAR forward ve reverse primer ve baz dizilimleri	29
Çizelge 3.15. SCAR analizleri PCR reaksiyon koşulları	29
Çizelge 4.1. Kullanılan ISSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri	33
Çizelge 4.2. Kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri	39
Çizelge 4.3. Kullanılan SSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri	45
Çizelge 4.4. Kullanılan TRAP primer kombinasyonlarının toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri	51

Çizelge 4.5. Kullanılan SCAR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri 56

Çizelge 4.6. Kullanılan tüm markörlerin ortalama allel sayısı (adet), ortalama polimorfik allel sayısı (adet), ortalama polimorfizm oranı (%) ve ortalama PIC değerleri 61



1. GİRİŞ

Cucurbitaceae familyasına ait olan kavun (*Cucumis melo* L.), çeşitli alt türleri bulundurması ve ekonomik değerinden dolayı önemli bir türdür. Kavunun, farklı coğrafik orjinlerden tanımlanan yabancı ve kültüre alınan birçok tipi bulunmaktadır (Pitrat vd. 2000). Yapılan araştırmalarda kavunun orjiniyle ilgili değişik görüşler bildirilmiştir. Afrika bölgesinde, *Cucumis* cinsine giren yabancı tiplerin oldukça fazla görüldüğü ve kavunun orjininde burasının olabileceği belirtilmiştir. İkincil gen merkezinin ise Türkiye'den Japonya'ya kadar uzanan Asya bölgesi olabileceği belirtilmiştir (Pitrat vd. 1999). Zhukovsky (1951) kavunun gen merkezinin Anadolu'da Van bölgesi olduğunu ve buradan dünyaya yayıldığını keşfetmiştir. Bir başka araştırmacı kavunun orjininin İran, Orta Asya, Afganistan, Güneybatı Asya ve Küçük Asya (Anadolu) olduğunu bildirmiştir (Günay 1993). Şensoy (2005) ise kavunun anavatanın Kore, Afrika, Asya, Güney Afrika ve Hindistan olduğunu vurgulayarak dünyaya bu bölgelerden yayıldığını bildirmiştir.

Kabakgiller ülkemizin sahip olduğu farklı coğrafi ve ekolojik özelliklerinden dolayı genetik kaynaklar açısından çok zengindir (Sarı vd. 2008). Ülkemizdeki toplam sebze üretiminin %28'ini kabakgiller karşılamaktadır. *Cucurbitaceae* familyasında karpuzdan sonra en fazla üretim kavuna aittir. Ülkemizde kavun üretimi, 774 bin dekarlık ekili alanda 1,8 milyon ton olarak yapılmaktadır (Anonim 1). Şensoy (2005) tarafından bildirildiğine göre; ülkemizde en çok kavun yetiştiriciliğinin yapıldığı bölge İç Anadolu Bölgesi (%41), bu bölgeyi sırasıyla Ege Bölgesi (%27), Güneydoğu Anadolu Bölgesi (%15), Akdeniz Bölgesi (%7), Marmara Bölgesi (%5), Doğu Anadolu Bölgesi (%4) ve Karadeniz Bölgesi (%1) izlemektedir. Dünyada ise en fazla kavun üretimine sahip ülke Çin'dir. Türkiye bunu ikinci sırada takip etmektedir (Anonim 2). Kavun üretiminde, Kuzey Afrika'da; Mısır ve Fas, Batı Asya'da; Türkiye ve İran, Avrupa'da; Fransa, İspanya ve Romanya önemli ülkelerdendir (Robinson ve Decker-Walters 1997).

Kavun da yüksek düzeyde polimorfizm olduğu birçok botanikçi tarafından sınıflandırma yapılarak belirlenmiştir. Pangalo'nun (1929) yaptığı sınıflandırmaya göre kavun, kültür kavunları (*cultus*) ve yabancı kavun (*agrestis*) olarak iki büyük alt gruba ayrılmıştır (Stepansky vd. 1999). Jeffrey (1980) ise kavunu alt tür şeklinde ifade ederek: subsp. *melo* ve subsp. *agrestis* olarak gruplandırmıştır. Pitrat vd. (2000) kavunları *agrestis* ve *melo* olarak alt gruplara ayırarak sınıflandırmıştır. *Cucumis melo* subsp. *agrestis* grubunun alt türleri: *conomon*, *makuwa*, *chinensis*, *acidulus* ve *momordica*'dır. *Cucumis melo* subsp. *melo* grubunun alt türleri: *cantalupensis*, *reticulatus*, *adana*, *chandalak*, *ameri*, *inodorus*, *flexuosus*, *chate*, *tibish*, *dudaim* ve *chito*'dur. *Cantalupensis* ve *inodorus* kavun tiplerinin en fazla Akdeniz Ülkelerinde yetiştirildiği bildirilmiştir (Schultheis vd. 2002). Bir başka araştırmacı ise kavunu agronomik özellikleri bakımından subsp. *agrestis* ve subsp. *melo* olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Subs. *melo* ise altı alt gruba ayrılmıştır. Bunlar:

- 1) *cantalupensis* (kantaloop veya muskmelon)
- 2) *inodorus* (kışlık kavunlar)
- 3) *flexuosus* (acur)
- 4) *conomon* (turşuluk kavunlar)
- 5) *dudaim* (kokulu cep kavunları)
- 6) *momordica* (çatlak kavunlar) şeklindedir (Robinson ve Decker-Walters 1997).

Farklı bitki türlerinde olduğu gibi *Cucurbitaceae* familyası sebzelerinin üretimini sınırlandıran en önemli faktörler hastalık ve zararlılardır. Hastalık ve zararlılar, verim miktarının azalmasına, üretilen ürünlerde kalite kaybına ve bazı çeşitlerin kaybolma tehlikesi yaşamasına neden olmaktadır (Yalçın-Mendi vd. 2007). Dünyada kavun yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde en önemli sorunlardan birisi külleme hastalığıdır. (Robinson ve DeckerWalters 1997). *Cucurbitaceae* familyası için önemli olan külleme, belirgin, yaygın ve kolay teşhis edilen bir hastalıktır. Hastalığın belirtileri beyazımsı, pudra benzeri ve hem yaprak yüzeyi hem de yaprak sapı ve gövde üzerinde, nadiren de meyvede tozlu fungal gelişimi şeklinde karakterize edilir (Zitter vd. 1996). Kavunda külleme hastalığına *Sphaerotheca fuliginea* (Schlech.) Polacci ve *Erysiphe cichoracearum* D.C. adlı obligat fungusların neden olduğu bildirilmiştir (Agrios 1988). Bu hastalık etmenleri sıcak ve kuru havalarda enfekte olarak, hastalığın ileri aşamalarında yaprakların kahverengileşmesine ve ölümüne sebep olmaktadır (Robinson ve Decker-Walters 1997). Kabakgillerde külleme hastalığının ana etmeni *Podosphaera Xanthii*'dir (Perez-Garcia vd. 2009). TÜBİTAK 109G029 nolu "Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşit ve Nitelikli Hat Geliştirme Projesi" kapsamında yürütülen "Kavunda Küllemeye Dayanıklı Nitelikli Hatların Geliştirilmesi" konulu iş paketinde yaygın olan etmenin *Podosphaera xanthii*'nin 5 nolu ırkına ait olduğu belirlenmiştir (Ünlü vd. 2010).

Küllemenin kontrolünü sağlamak için çok fazla araştırma yapılmaktadır. Ancak hala bu etmenin biyolojisinin ana özellikleri bilinmemektedir. Hastalığın kontrolü için yeni fungusitler geliştirilmekte, fakat bu durum üreticiler için kalıcı bir çözüm olmamaktadır (Perez-Garcia vd. 2009). Yapılan kimyasal mücadeleler hem ekonomik değildir hem de fazla zaman almaktadır. Ayrıca etmenin kimyasal kontrolünde çevreye ve meyve dış yüzeyine zarar verilmektedir. Bu durumda ürünlerin kalitesine olumsuz yansımaktadır. Bütün bu nedenlerden dolayı hastalığın kontrolünde kimyasal mücadeleyle birlikte dayanıklı çeşitler kullanmak en iyi çözüm olarak düşünülmektedir. (Hosoya vd. 1999; Perez-Garcia vd. 2009)

Bitki ıslahçıları, moleküler tekniklerin geliştirilmesine kadar, istenilen karakterleri seçmek için klasik ıslah yöntemleriyle çalışmışlardır. Ancak bu yöntemleri kullanmak bazı sorunlara sebep olabilmektedir. Moleküler yöntemlerin geliştirilmesi ise olabilecek sorunları azaltmaktadır (Tanksley vd. 1989). Güleç (2010), farklılıkları DNA seviyesinde belirleyen ve çalışılan genotiplerde elde edilmek istenen geni veya özelliği belirlemek için kullanılan markörleri, moleküler markörler olarak tanımlamıştır. Moleküler markörler, kantitatif ve kalitatif özelliklerin ıslahında, genetik ve linkage haritalamalarında, seleksiyonda, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde kullanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005) Moleküler markörler yardımı ile, bitki gen kaynaklarının DNA seviyesinde taranması sağlanarak, bitkiler genetik olarak incelenir ve bireyler arasındaki genetik ilişkiler belirlenir. Bu durum, fazla zaman ve emek isteyen ıslah çalışmalarında, kullanılacak olan popülasyonun genetik yapısının bilinmesinde ve hedefe uygun materyal seçiminde kolaylık sağlamaktadır (Sarıkamış 2014).

Genetik haritalama çalışmaları genelde, double haploid hatlar, F₂, ve geri melez popülasyonlarıyla yapılmaktadır. F₂ ve BC popülasyonları ile hızlı bir şekilde geliştirilir ancak DNA kullanımından sonra bu popülasyonlarla tekrar çalışılmaz. Bu sorunu

çözmek için de RIL populasyonu geliştirilmiştir (Burr ve Burr 1991). RIL populasyonu, F_2 bireylerinin defalarca kendilenecek ve tek tohum nesil (single seed descent) yöntemi ile oluşturulur (Taylor 1978). RIL popülasyonunda kendileme sonucu heterozigot bireylerin kaybedilmesiyle homozigotluğa ulaşmakta ve dolayısıyla yeni rekombinantların oluşma şansı azalmaktadır. Bu popülasyonun en büyük avantajı çok sayıda birey elde edilebilmesi, farklı çevre koşullarında fenotiplerin gözlenebilmesi ve çalışmaların tekrarlanabilmesidir (Yıldırım ve Kandemir 2004).

Bu çalışmada, küllemeye dayanıklılık amacıyla oluşturulan RIL populasyonu, SRAP, SSR, ISSR, TRAP ve SCAR markör sistemleriyle taranmıştır. RIL populasyonu; TÜBİTAK 109G029 nolu projede yazlık hassas tip olan TKÜ3 ile, dayanıklı PMR-6 genotipi melezinden geliştirilerek oluşturulmuştur. Çalışmanın amacı, popülasyondaki polimorfizmi belirleyerek, bireylerin ana-baba ebeveyn ile olan ilişkilerini incelemektir.



2. KAYNAK TARAMASI

Bitkiler arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemek ve ıslah çalışmalarına yarar sağlayabilmek için kullanılan markörler, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler olmak üzere üç farklı gruba ayrılırlar (Akgül 2012). Morfolojik markörler genetik olarak uzak akraba olan bitki gruplarında kullanılabilirken, yakın olan akraba gruplarında etkin bir şekilde kullanılamamaktadır. Biyokimyasal markörler ise, moleküler markörlere göre daha ekonomiktir. Ancak üretilen biyokimyasal markörlerin sayısı yeterli değildir (Gülşen ve Mutlu 2005). Genomda bulunan bir gen bölgesi veya gen bölgesi ile ilgili DNA parçasına moleküler markör denilmektedir. Moleküler markör yöntemleri DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin belirlenmesi ilkesine göre çalışır. Popülasyonda rastgele bir genin yada özelliğin birden fazla hali bulunuyorsa, o gen veya fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilmektedir. Polimorfizm, amino asit dizisi, DNA dizisi, kromozomal yapı veya fenotipik özellik varyantları gibi birkaç düzeyde görülebilir. (Yorgancılar vd. 2015). Şensoy (2005), iyi bir moleküler markörün; polimorfik, tekrarlanabilir, tercihen kodominant kalıtım gösteren, güvenilir, otomasyon sistemlerine uygun, pratik ve ekonomik, çevre ve diğer lokuslardan etkilenmemesi gerektiğini ve aynı zamanda markörlerin parmakizi çalışmalarında, gen klonlanmasında, genetik haritalamada, markör yardımcı seleksiyonda (MAS) ve moleküler evrim çalışmalarında kullanıldığını bildirmiştir (Akgül 2012).

Bitkilerde genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için kullanılan ilk DNA markörü RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)'dir. Ancak bu markör yöntemi ekonomik ve hızlı değildir. Bu durumda PCR'a dayalı moleküler markörlerin gelişmesine sebep olmuştur (Tanskley vd.1989). Moleküler markörler, Hibridizasyona dayalı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna dayalı markörler olmak üzere ikiye ayrılırlar. RFLP hibridizasyona dayalı markör tipidir. PCR'a dayalı markörler ise; RAPD, AFLP, SSR ve ISSR'dır. Bu markör yöntemlerine ek olarak; SCAR, SRAP, ALP, STS, CAPS vardır (Yorgancılar vd. 2015).

ISSR, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını esas alan bir yöntemdir (Zietkiewicz vd. 1994; Gupta vd.1994). ISSR tekniği, RAPD tekniğine benzemekle birlikte, kullanılan primerlerin mikrosatellit bölgelerinden çoğaltılmış olmaları ve primer bağlanma sıcaklıklarının yüksek olması ile RAPD tekniğinden ayrılır. ISSR tekniği rastgele tekrarlanan DNA'ları kullanır ve primer kullanılarak yapılan DNA güçlendirmesi yakın akraba olan toplulukları kolayca birbirinden ayırır (Levi vd. 2005). Bu markörlerin uygulanması kolay, kullanımları pratik ve primerleri daha uzundur. Bu nedenle ISSR markörleri güvenilirdir (Bornet ve Branchard 2001). ISSR primerleriyle çalışmak hem ekonomiktir hem de fazla zaman almadığı için zaman tasarrufu sağlar (Yorgancılar vd. 2015).

SSR, 1-10 (genellikle 3-6) baz çifti arasında, kısa diziler halinde genomda rastgele dağılmış tekrar dizileridir. SSR, son yıllarda en fazla kullanılan mikrosatellit markör tekniği olmuştur. Genomda bol olması, yüksek polimorfizm göstermesi, Mendel kalıtımına uygunluğu, kodominantlık ve farklı laboratuvarlarda tekrar üretilabilir olması gibi özellikleri sayesinde bu markör tekniği çalışmalarda daha çok tercih edilmektedir (Monforte vd. 2003; Fukino vd. 2008). Ancak SSR tekniğinde, genomda tekrarlanan baz dizilerinin belirlenmesi, bunların primer olarak kullanılması ön bir çalışmayı gerektirdiğinden maliyet oldukça yüksektir (Powell vd. 1996).

SRAP markörleri son dönemlerde geliştirilmiş yeni bir moleküler markör sistemidir. SRAP, iki primerden oluşan bir kombinasyonla çalışma prensibine sahiptir. Primerler 17-18 nükleotitten meydana gelir ve bunlardan birisi forward, diğeri ise reverse primer olarak isimlendirilmektedir. Bu primerlerde 13-14 nükleotitten oluşan bir çekirdek sekans kısmı vardır. Bu kısımdan sonra 3 seçici nükleotitten oluşan bölüm bulunmaktadır. SRAP primerleri genomun fonksiyonel kısımlarını hedef aldığından teorik olarak RAPD ve AFLP gibi sistemlerden daha üstündür (Li ve Quiros 2001).

TRAP markörleri yine son zamanlarda Hu ve Vick (2003) tarafından geliştirilmiş yeni moleküler markör sistemlerindendir. Bu teknik, PCR temelli hedefteki aday gen bölgeleri için polimorfik markör üretmek amacıyla, biyoinformatik araçların ve EST veri bankalarının kullanılarak gerçekleştiği hızlı ve etkili bir yöntemdir. TRAP tekniği, spesifik gen dizilerine yönelik genetik markör üretiminde, germplazm genotip karakterizasyonlarında ve markör yardımıyla ıslah çalışmalarında agronomik açıdan önemli karakterlerle ilgili genetik markörlerin üretilmesinde kullanılmaktadır (Hu vd. 2005).

SCAR, RAPD ve ISSR gibi markör özgüllüğü düşük olan markörlerin gücü, bu tekniklerle elde edilen bantların jel üzerinden çıkarılarak, 3' sonlarındaki DNA zincirlerinin tespiti ve bunların daha uzun, dolayısıyla da daha spesifik primerler olarak PCR reaksiyonlarında kullanılması ile artırılır (Paran ve Michelmores 1993). SCAR markörlerinin ISSR ve RAPD makırlarına göre tekrarlanabilirliği fazladır. Bu markörler genelde dominant markörler olmasına rağmen, bantların tek tek kısa nükleotid kesici restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ile kodominant markörlere dönüştürülebilir (Gülşen ve Mutlu 2005).

CAPS, uygun primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış DNA bölgelerinin kesim enzimleriyle parçalanması esasına dayanır. CAPS markörleri homozigot-heterozigot allel ayrımını rahatlıkla yapabilmektedir (Konieczny ve Ausubel 1993). Genetik haritalama, moleküler tanımlama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Weiland ve Yu 2003).

Genetik farklılığın ölçüsünü belirlemede, moleküler markörler etkili olarak kullanılırlar. Fakat markör bilgisi fizyolojik ve fenotipik karakterlerle ilişkilendirilmediği sürece ıslahta kullanımı yeterli değildir (Tanksley 1983). Genetik markörlerin en önemli kullanım alanı genetik haritalardır. Genetik haritalama yüksek organizmaların genomlarının kromozom olarak adlandırılan doğrusal (linear) üniteler halinde organize

olması ve taşınması gerçeğinin tespit edilmesiyle mümkün olmuştur. Aynı kromozom üzerindeki birbirine yakın genetik markörlerin ebeveynlerden döllere birlikte hareketi veya genetik bağlantı olayı kromozom boyunca bulunan markörlerin diziliminin belirlenmesini sağlamıştır (Paterson 1996).

Moleküler markörlerin en etkili kullanıldığı alan, karmaşık kalıtıma sahip olan birden çok gen tarafından idare edilen kantitatif karakterlerin (quantitative trait locus=QTL) ıslahıdır. Bitki boyu, çiçeklenme zamanı, kardeşlenme, verim ve verim unsurları, kalite, bazı hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık gibi birçok karakter kantitatif olarak idare edilmektedir ve bitki ıslahı çalışmaları açısından oldukça büyük öneme sahiptirler. Kantitatif karakterlerin (QTL) birden fazla lokustaki genler tarafından idare edilmeleri, her bir lokusun etki derecesinin farklı olması ve çevre şartlarından fazla etkilenmeleri nedeniyle klasik metodlarla ıslah çalışmalarında belirlenmeleri ve aktarılmalrı oldukça zor ve uzun yıllar gerektiren bir uğraştır. Oysa moleküler markörler ile yapılan detaylı genetik haritalar sayesinde özellikle katlanmış haploid ve rekombinant kendilenmiş hatlar gibi homozigot populasyonların farklı çevre şartlarında yetiştirilmeleri sonucu her bir lokusun etki derecesi belirlenebilmiş ve lokusların muhtemel yerleri kromozomlar üzerinde tespit edilmiştir (Paterson vd. 1988; Lander ve Botstein 1989).

Külleme hastalığı etmeninin, yayıldığı bölgelerde iki farklı türü olduğu belirtilmiştir. Bunlar; *Podosphaera xanthii* (*Sphaerotheca fuliginea* Schlech ex Fr. Poll.) ve *Golovinomyces cichoracearum* (*Erysiphe cichoracearum* DC ex Merat)'dır (Sowell 1982; McCreight vd. 1987; Cohen vd. 1993; Epinat vd. 1993; Krstková vd. 2004). Kavunda yapılan çalışmalarda bugüne kadar *Podosphaera xanthii*'nin 5 ırkı (0, 1, 2, 3 ve 5), *Golovinomyces cichoracearum*'un ise 2 ırkının (0 ve 1) olduğu bildirilmiştir (Bardin vd. 1999).

Yapılan çalışmalara göre, kavunda külemeye (*Podosphaera xanthii*) dayanıklılık, iki bağımsız gen tarafından kontrol edilmektedir. Bu genlerden birisi dominant, diğeri ise resesiftir ve dominant-resesif epistasi vardır (Yuste-Lisbona vd. 2010). Bugüne kadar farklı dayanıklılık kaynakları ve populasyonlar kullanılarak haritalama çalışmaları yapılmıştır (Pitrat vd. 1991; Périn vd. 2002; Perchepied vd. 2005; Fukino vd. 2008; Yuste-Lisbona vd. 2011; Beraldo-Hoischen vd. 2012). Kavunda külleme hastalığında, dayanıklılık genine en yakın markör dominant gen üzerinde 1,9 cM mesafede, TGR 1551 (♀) x Bola de Ora (♂) melezlemesinden elde edilen F_{2,3} populasyonunu kullanarak elde edilmiştir (Yuste-Lisbona vd. 2011). Beraldo-Hoischen vd. (2012) aynı ebeveynlerin kullanılmasıyla elde edilen RIL populasyonunu kullanarak, resisif gen üzerindeki dayanıklılık için QTL çalışması yapmışlardır.

Katzir vd. (1996), 8 kavun, 11 hıyar, 5 yazlık kabak, 3 karpuz ve 1 kışlık kabak çeşidinden oluşan değişik *Cucurbitaceae* türlerindeki polimorfizmi, 5 kavun ve 2 hıyar SSR primeri ile araştırmıştır. Yapılan analizler sonucunda 7 SSR'dan beşinin kavun genotipleri arasında, dördünün ise hıyar genotipleri arasında polimorfizm gösterdiği ve genetik çeşitlilik oranlarının sırasıyla 0,53-0,75 ile 0,18-0,64 olduğu bulunmuştur.

Danin-Poleg vd. (1998), kavunlarda ISSR markör tekniğinde polimorfizmi araştırmak üzere 7 kavun genotipinde (PI 414723, 'Dulce', 'Freeman's Cucumber', 'Boy

Yizre'el', 'Galia', 'Arava' and 'C8') 42 adet ISSR primeri kullanmıştır. Analizler sonucunda 26 ISSR primerinden %62 oranında polimorfizm elde edilirken, 8 tanesi monomorfik, 8 tanesinden ise amplifikasyon sağlanamamıştır. Araştırmacılar, 'Galia', 'Arava' ve 'C8' genotiplerinin birbirinden açıkça ayırt edildiğini ve ISSR markör tekniğinin kavunda son derece bilgilendirici olduğunu bildirmektedir.

Garcia vd. (1998), 7 kavun çeşidine ait 32 hat arasındaki genetik ilişkileri belirlemek için RAPD markörleri ve agronomik özellikleri kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan ıslah hatlarının çoğunu, yeni hibrid kombinasyonları geliştirmek için hala ıslah programlarında kullanılan Galia ve Piel de Sapo genotipleri oluşturmuştur. Genetik uzaklık hesaplanması ve kümeleme analizleri için 43 primerden toplam 115 güvenilir bant skorlanmış ve 24 agronomik özellik kaydedilmiştir. Hatlar arası genetik ilişkiler değerlendirildiğinde, agronomik özellikler ve RAPD arasında uyum olduğu belirlenmiştir.

Kavunda 5 ırk (0, 1, 2, 3 ve 5) olan *Sphaerotheca fuliginea* (Schlech.) Polacci ve 2 ırk (0 ve 1) olan *Erysiphe cichoracearum* D.C. ile yapılan bir çalışmada, duyarlı Vedrantis ve dayanıklı PI 124112 kavun çeşitlerinden elde edilen 64 rekombinant saf hat üzerinde *S. fuliginea* 1., 2., 4. ve 5. ırkları ile *E. cichoracearum* 1. ırk kullanılarak, külemeye dayanıklılığın genetik analizi yapılmıştır (Bardin vd.1999).

Stepansky vd. (1999), 23 ülkeye ait 54 kavun genotipini, morfolojik (vegetatif, çiçek ve meyve özellikleri) ve moleküler (ISSR ve RAPD) özellikleri bakımından incelemişlerdir. Moleküler tekniklerde kullanılan 14 RAPD primerden elde edilen 44 markör ve 9 ISSR primerden elde edilen 42 markör, çeşit ayırma çalışmasında benzer sonuçlar vermiştir. Ayrıca morfolojik ve moleküler markörlerden elde edilen sonuçlar benzerlik göstermiş; tatlı kantalo ve inodorus çeşitleri, diğer tatsız çeşitlerden farklı bir grup oluşturmuşlardır.

Staub vd. (2000), RAPD ve SSR primerlerini, *C. melo* L. subsp. *melo* (Cantalupensis, Inodorus) ve subsp. *agrestis* (Conomon, Flexuosus) grubuna ait 46 kavunun akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla kullanmıştır. Genetik uzaklıklarını hesaplamak için, 135 RAPD bandı ve 54 SSR bandı arasında tespit edilen farklardan yararlanmışlardır. Bu belirteçler kullanılarak belirlenen genetik ilişkiler genellikle benzerdir. RAPD markör analizinin sonuçları, 80 işaretleyici bandın genetik varyasyonu değerlendirmek için yeterli olduğunu göstermektedir.

Danin-Poleg vd. (2001), kabakgil türlerinden geliştirilmiş olan 61 tane SSR belirtecin, 40 tanesiyle, 13 adet kavun ve 11 adet hıyar çeşitleri arasındaki uzunluk farklılıklarını araştırmışlardır. Kavun genotipleri arasında 6 allel, hıyar genotipleri arasında 5 allel elde edilmiştir. Genetik çeşitlilik oranı kavunda 0,52, hıyarda ise 0,28 olarak bulunmuştur. Bu SSR'lar, egzotik ve tatlı kavun grupları arasındaki farkı net şekilde belirlemiş ve ayrıca hıyarda iki alt tür olan *C. sativus* var. *sativus* ve *C. sativus* var. *hardwickii* birbirlerinden ayırabildiğini bildirmişlerdir.

Li ve Quiros (2001), SRAP markör sistemini geliştirerek ilk defa lahana bitkisinde (*Brassica oleracea* L.) rekombinant saf hatlardan ve dihaploid hatlardan oluşan bir

populasyonda uygulamıştır. Yapılan sekans analizlerinde elde edilen markörlerin % 20'sinin kodominant olduğu ve en uygun SRAP primerinin 17-18 bp uzunluğunda olması gerektiği bildirilmiştir.

Fuzhong vd. (2002) RAPD ve ISSR markör teknikleri ile 37 kavun üzerinde genetik çeşitliliği araştırmışlardır. 21 RAPD primerinden 106 polimorfik bant ve %58 polimorfizm oranı elde edilmiştir. RAPD primerlerinin PIC değeri ise 0,47 olarak bulunmuştur. 10 ISSR primerinden ise 73 polimorfik bant ve %65 polimorfizm oranı elde edilmiştir. ISSR markörünün PIC değeri ise 0,53 olarak bulunmuştur. Yapılan kümeleme analizleri sonucunda kavunların kültür ve yabani kavun olarak iki ana gruba ayrıldığı bildirilmiştir. Sonuç olarak RAPD ve ISSR markör tekniklerinin kavun gen kaynaklarındaki genetik çeşitliliği araştırmak için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Ferriol vd. (2003), İspanya'nın yerel genotiplerinden oluşan *Cucurbita pepo*'ya ait 69 genotipi morfolojik ve moleküler olarak değerlendirmişlerdir. Moleküler çalışmalarda SRAP ve AFLP markörlerini kullanmışlardır. Yapılan analizler sonucunda 11 SRAP primer kombinasyonundan 88 adet bant üretilmiş ve 64'ünün polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarda, SRAP markörlerinden AFLP'ye göre morfolojik çeşitlilikle daha uyumlu bilgilere ulaşıldığı bildirilmiştir.

Monforte vd. (2003), kavunda genetik çeşitliliği tespit etmek amacıyla SSR markörü kullanmışlardır. Yabani ve kültür formlarını içinde bulunduran 27 adet *Cucumis melo* L. ele alınarak aralarındaki akrabalık durumlarını ve genetik farklılığını belirlemek amacıyla 18 SSR primeri kullanılmıştır. Yapılan analizlerde SSR'ların oldukça polimorfik olduğu, toplam 114 allel tespit edildiği ve lokus başına ortalama 6,3 allel düştüğü tespit edilmiştir. Kümeleme analizleri sonucunda iki ana grup oluşmuştur. Grupların *Cucumis melo*'nun iki alt türü (*agrestis* ve *melo*) ile uyumlu olduğu bulunmuştur.

Cohen vd. (2004) *Podosphaera xanthii*'nin fizyolojik ırklarını tanımlamaya çalışmışlar. Patojenin 8 ırkını Amerika, Afrika, Avrupa ve Akdeniz kıyılarında tanımlamışlar, 4 yeni ırkını ise Japonya'da kavun yetiştirilen sera alanlarında rapor etmişlerdir. Bitkilerin küllemeye cevap vermesinin ışık yoğunluğu, sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörler ile bitkinin beslenme durumu ve yaşı ile doğrudan ilgili olduğunu da belirtmişlerdir.

Kavunda küllemeye kısmi dayanım ile mildiyöye tam dayanıklılıkla ilgili QTL haritasının oluşturulduğu çalışmada, rekombinant ıslah hatları kullanılarak farklı moleküler markörler ile doğal ve yapay inokülasyon testlemeleri değerlendirilmiştir. *Pseudoperonospora cubensis*'in dayanıklılığına ilişkin bir majör QTL belirlenmiş ve bu fenotipik varyasyonun %12 ile %38'ni açıklayabilmiştir. Bunun dışında bu etmene dayanıklılıkla ilgili 8 QTL daha tanımlanmıştır. *Podosphaera xanthii*'nin 4 ırkına dayanıklılıkla ilişkili 2 bağımsız major gen (PmV.I ve PmXII.I) tanımlanmıştır (Perchepped vd. 2005).

Gonzalo vd. (2005), SSR primerlerini kavunda haritalama (merging linkage map) çalışmasında kullanmışlardır. 118 SSR primeri, genomik kütüphaneler, EST ve EST-SSR'lar incelenerek belirlenmiştir. SSR markörü haritalama çalışmasında çok başarılı bulmuşlardır. Başka bir haritalama çalışmasında da, genomik kütüphaneler, EST ve EST-SSR'lar dikkate alınarak 158 SSR primeri kullanılmıştır (Fernandez-Silva vd. 2008).

Sestili vd. (2008), İtalyan'ın farklı bölgelerinden toplanmış *inodorus* kavun genotiplerinde farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla 18 SSR primeri ve 90 ISSR primeri kullanmıştır. Kullanılan 90 ISSR primerinden 39 tanesinde 358 polimorfik bant görülmüştür. İlk SSR analizi, yüksek düzeyde polimorfizm ortaya çıkarmış ve bu nedenle moleküler markörlerin, İtalyan *inodorus* popülasyonları arasındaki genetik ilişkiyi incelemek için yararlı olduğunu tespit edilmiştir. Hadia vd. (2008) benzer bir şekilde, *Cucurbita* (*C. pepo*, *C. moschata* ve *C. maxima*) türlerine ait 14 genotipin arasında bulunan genetik akrabalığı belirlemek amacıyla RAPD ve ISSR primerlerini kullanmıştır.

Fabriki Ourang vd. (2009) İran'ın farklı bölgelerinden toplanan 54 kavun genotipi üzerinde ISSR primerleriyle genetik çeşitlilik çalışması yapmıştır. Çalışmada kullanılan 11 ISSR primeri sonucunda, 84 banttan 63 adet polimorfik bant elde edilmiştir. UPGMA yöntemiyle yapılan kümeleme analizleri sonucunda, genetik uzaklık (Jaccard katsayısı) ortalama 0,74, PIC değeri ise 0,84 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar (AC)₈G primerinin en yüksek PIC değerine (0,92) sahip olduğunu ve ileriki çalışmalarda kullanılabileceğini bildirmiştir.

Fukino vd. (2010), SSR markörlerini kullanarak, küllemeye dayanıklılıkta etkili olan QTL'leri belirlemek amacıyla, hıyar genetik haritasıyla kavun genetik haritası üzerinde karşılaştırma yapmışlardır.

Liu vd. (2010), SRAP markörü kullanarak, küllemeye dayanıklılık üzerine çalışma yapmışlardır. F₂ popülasyonunu kullanarak yaptıkları çalışmada, *P. xanthii* ırk 1 için, Pm-8 geninin tespit edildiğini, markör yardımcı seleksiyon (MAS) yaparak ıslah çalışmalarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Yıldız (2010) havuçlarda antosiyanin sentezlenmesini etkileyen genlerin biyosenteziyle mor ve sarı renkleri veren P1 ve Y2 genlerinin haritalama çalışmasını SSR, AFLP, SNP ve SCAR markör tekniklerini kullanarak yapmıştır. Çalışmada "P1173687 x B10138" ve "P1173687 x B493" melezlemeleri yapılmış ve oluşturulan F2 popülasyonundan 72 birey kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda bağlantı grupları için toplam 312 markör (%82,7 AFLP, %13,5 SSR, %2,6 SNP ve %0,6 SCAR) kullanıldığı bildirilmiştir. Sonuçlarda oluşturulan haritanın toplam uzunluğunun 2389 cM ve markörler arası mesafenin 7,6 cM olduğu bulunmuştur.

Yıldız vd. (2011) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 63 adet kavun genotipi ile 19 adet yabancı kavun genotipi arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek

amacıyla ISSR, SRAP ve RAPD primerlerini kullanmıştır. Kullanılan primerlerden toplam 162 polimorfik bant elde edilmiştir (69 ISSR, 18 SRAP ve 75 RAPD). Yapılan analizler sonucunda, Güneydoğu Anadolu kavun genotipleri ile indorus ve cantalupensis grupları birbirinden belirgin bir farkla ayrılmıştır. Türkiye kavun genotipleri arasında polimorfik bant yüzdesinin %90,7, yabancı kavun genotiplerinin ise %87,6 bulunduğu bildirilmiştir.

Kaçar vd. (2012) SSR primerleri kullanarak Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 81 genotip ve Fransa'dan temin edilen 15 genotiple toplamda 96 genotip üzerinde genetik çeşitlilik çalışması yapmışlardır. Çalışmada 20 tane polimorfik SSR'dan 123 allel elde edilmiş ve primer başına düşen ortalama polimorfik allel sayısı 6,15 olarak bulunmuştur. UPGMA yöntemiyle yapılan kümeleme analizleri sonucunda genetik benzerlik oranı 0,22 ile 1 arasındadır. Sonuçlarda Türkiye'nin kavun genotipleri arasındaki genetik çeşitlilik oranı daha yüksek bulunmuştur.

TRAP markörler, kavunda küllemeye dayanıklılık genlerinin haritalanmasında, PI 414723 x Vendrantis melezlemesinden elde ettikleri 87 adet bireyden oluşan F₂ popülasyonunu kullanarak AFLP ve TRAP markörlerden yararlanmışlardır. TRAP markörlerden daha fazla polimorfizm elde edilmiştir (Fazza vd. 2013).

Henane vd. (2015), beş adet Tunus kavun (*Cucumis melo* L.) çeşiti (Maazoun, Galaoui, Stambouli, Trabelsi, Asliile) ile Tunus Ulusal Tarım Araştırma Enstitüsü tarafından seçilen "fakous" (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) un genetik çeşitliliğini on iki mikrosatellit markör kullanarak incelemiştir. Kullanılan 12 SSR primer çiftinden 11 tanesi polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı 0,43 ile 0,92 değerleri arasındadır. Yapılan analizlerde, yüksek orandaki polimorfizm, kavun çeşitleri ve "fakous"un önemli bir çeşitlilik havuzu oluşturduğunu göstermiştir. Kümeleme analizleri sonucunda çeşitler iki farklı gruba ayrılmış ve "fakous" diğer çeşitlerden net bir şekilde ayrıldığı görülmüştür.

Solmaz vd. (2016) Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan acur (*Cucumis melo* L. subsp. *melo flexuosus* Group) genotipleri ile Fransa'daki Dünya Kavun Gen Bankası'ndan elde edilen genotipler arasındaki genetik çeşitliliği 13 SSR markörü kullanarak incelemiştir. Toplamda 69 allel tespit edilmiş ve markörlerinin polimorfizm oranı 0,19 ile 0,57 arasında değişmektedir. Yapılan kümeleme analizleri sonucunda, iki ana grup tanımlanmış ve genotipler arasında oldukça yüksek genetik çeşitlilik tespit edilmiştir. Buna rağmen, acur genotipleri ve Dünya Kavun Gen Bankası'ndan elde edilen genotipler birlikte gruplandırılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, BATEM tarafından yürütülen, TÜBİTAK tarafından desteklenen 116O200 no'lu "PMR6 Kavununun RIL Populasyonunda *Podosphaera xanthii* 'nin 1, 2 ve 5 nolu Irklarına Dayanıklılığın QTL Haritalaması ve Dayanımı Yüksek Yerli Çeşitlerin Geliştirilmesi" adlı proje dahilinde, BATEM Bitki Sağlığı Bölümü Moleküler Laboratuvar'ında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak, BATEM Sebzecilik ve Süs Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilen RIL populasyonuna ait 138 genotip kullanılmıştır. RIL populasyonu, küllemeye hassas TKÜ3 ile, küllemeye dayanıklı PMR6 genotipi melezinden geliştirilerek oluşturulmuştur. TKÜ3, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Kavun Islah Programı'nda geliştirilen yazlık tipte kavun hattıdır. Pomolojik özellikleri, ülkemiz için üstün özelliklere sahip olmakla beraber küllemeye oldukça hassastır. PMR6, Malaga-İspanya' da bulunan "La Mayora" araştırma merkezinden temin edilen ırk ayırıcı çeşitlerden birisidir. PMR6, *Podosphaera xanthii*'nin 1, 2 ve 5 ırklarına dayanıklıdır (Ünlü vd. 2010).

Populasyondaki bireylerin *Podosphaera xanthii* ırk 5'e karşı reaksiyonlarının belirlenmesi, BATEM Sebzecilik ve Süs Bitkileri Bölümü tarafından Ünlü ve Ünlü (2012)'nin bulduğu klasik test metodu kullanılarak yapılmıştır. Metoda göre; kavun fidelerine, 3-4 gerçek yapraklı olduğu dönemde, külleme sporları içeren sıvı süspansiyon (5×10^6 spor/ml) yaprakların üst kısımlarına sprey şeklinde püskürtülerek inokulasyon sağlanmıştır. Testlenen bitkiler ortalama 26°C sıcaklıkta ve %60 nemde kompartman ortamında inkübasyona bırakılmıştır. Değerlendirmeler, 15. günün sonunda tamamlanmış ve testleme sonuçları Yuste-Lisbona vd. (2010)'un kullanmış olduğu aşağıda verilen 1-4 skalasına göre yapılmıştır.

1-sporulasyon yok

2-zayıf sporulasyon

3-orta sporulasyon

4-yoğun sporulasyon

Sporlanma ölçüm çubuğu 1 cm olarak alınmış, buna göre, skala değeri 1 ve 2 olanlar dayanıklı, 3 ve 4 olanlar ise duyarlı olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmada kullanılan genotipler ve skala değerleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin 1-4 skala değerleri

DNA No	Hat No	Skala	DNA No	Hat No	Skala	DNA No	Hat No	Skala
1	T1	1	47	T59	1	93	TF88	3
2	T2	1	48	T60	1	94	PMR6 ♂	1

Çizelge 3.1'in devamı

3	T3	1	49	T61/1	1	95	H1	4
4	T4	1	50	T62	3	96	H2	4
5	T5	4	51	T63	2	97	H3	4
6	T6	3	52	T64	2	98	H4	4
7	T7	2	53	T65/1	4	99	H5	4
8	T8	2	54	T66	1	100	H6	4
9	T9	3	55	T67	1	101	H7	4
10	T10	1	56	T68/1	1	102	H8	4
11	T11	1	57	T69	1	103	H9	3
12	T12	4	58	T70	2	104	H10	4
13	T13	1	59	T71	2	105	H11	3
14	T16	1	60	T72	1	106	H12	4
15	T18	1	61	T73	1	107	H13	4
16	T20	1	62	T74	1	108	H16	4
17	T21	2	63	T75	1	109	H17	4
18	T22	2	64	T76	1	110	H18	4
19	T23	1	65	T77	1	111	H19	4
20	T24	1	66	T78	2	112	H20	4
21	T25	1	67	T79	1	113	H21	4
22	T26	2	68	T80	1	114	H22	4
23	T27	2	69	T81	4	115	H24	4
24	T28	1	70	T82	1	116	H26	3
25	T29	1	71	T83	1	117	H27	4
26	T30	1	72	T84	1	118	H28	4
27	T31	1	73	T85	2	119	H29	4
28	T32	1	74	T86	1	120	H30	4
29	T33	1	75	T87	2	121	H31	4
30	T34	1	76	T88	1	122	H32	4
31	T36	1	77	T88/1	1	123	H33	3
32	T39	3	78	T89	1	124	H34	4
33	T40	1	79	T91	3	125	H36	4
34	T41	1	80	T92	1	126	H37	4
35	T42/2	1	81	TKÜ3 ♀	4	127	H38	4
36	T44	2	82	Kül 1-7	1	128	H39	4
37	T45	3	83	Kül 1-9	1	129	H40	4
38	T46	4	84	Kül 6-6	1	130	H42	4
39	T47	3	85	Kül 10-1	2	131	H43	3
40	T49	3	86	Kül 11-4	1	132	T11	4
41	T51	3	87	Kül 11-9	1	133	T13	3
42	T52	3	88	Kül 12-4	1	134	T33	4
43	T54	3	89	Kül 13-1	1	135	T37	3
44	T55	3	90	Kül 14-1	1	136	T46	4
45	T56	1	91	TF 37	2	137	T55	4
46	T57	1	92	TF 29	2	138	T65	3

3.2. Metot

3.2.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için, BATEM Sebzeçilik ve Süs Bitkileri Bölümü araştırma seralarında 138 genotipin tohumları viyollere ekilmiş ve bitkinin büyüme noktasına yakın taze yapraklarından örnekler alınmıştır (Şekil 3.1). Alınan örnekler bir gün sonrasında izolasyon yapmak için 4 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Viyollerde DNA izolasyonu için yetiştirilen genotipler

Genomik DNA izolasyonu, Doyle ve Doyle (1990)'nin CTAB yöntemine göre bazı optimizasyonlar yapılarak BATEM Bitki Sağlığı Bölümü Moleküler Laboratuvar'ında gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyon aşamaları:

1. Her örnek için, 0,1 gr taze yaprak bilye yardımıyla TissueLyser II (Qiagen) kullanılarak ezildikten sonra 0.2 ml CTAB ekstraksiyon çözeltisi [1,4 M of NaCl, 20 mM of EDTA, 100 mM of Tris-HCL (pH 8), 2% CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide), 1,2 µl of beta-mercaptoethanol ve PVP (polyvinylpyrrolidone)] eklenmiştir.
2. 1 dk Vortex yapılmıştır.
3. -20 °C' de 30 dk bekletilmiştir.
4. Buzluktan alınıp 1 dk daha Vortex yapılmıştır.
5. 65 °C'de 15 dk inkübe edilmiştir. Her 5 dk tüpler alt üst edilmiştir.
6. 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj yapılmıştır.
7. Sıvı kısımdan 650 µl alınıp, yeni ependorf tüpe aktarılmıştır.
8. Üzerine eşit hacimde (650 µl) 24: 1 oranında hazırlanmış olan kloroform: isonoml alkol'den eklenip tüpler alt üst edilmiştir.
9. 14.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
10. 500 µl supernatant alınıp ve yeni tüpe aktarılmıştır.
11. Üzerine 350 µl isopropanol eklenip (soğuk), pipetaj yapılmıştır.
12. 14.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
13. Dipteki pelete dikkat edilerek sıvı kısım dökülmüştür.
14. Pelet %70'lik alkol ile yıkanmıştır.
15. 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.
16. Sıvı kısım dökülüp tüpler kurumaya bırakılmıştır.

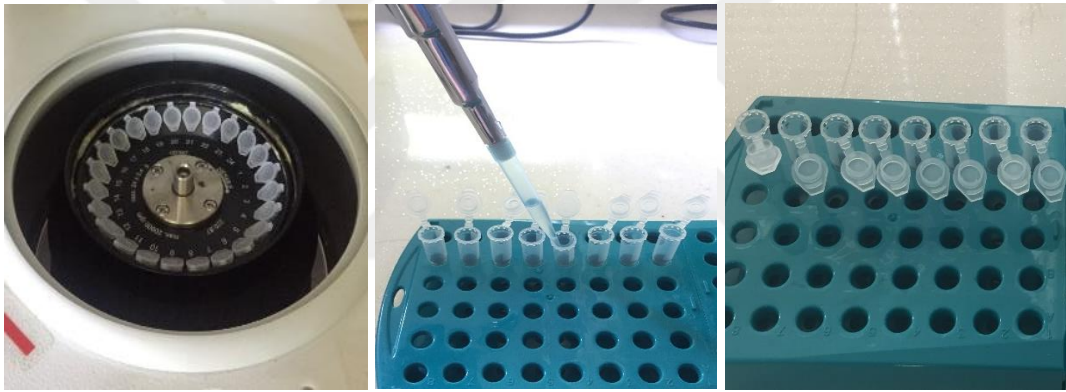
17. Pelet 50 μ l 20 mM Tris HCL (ph:8) solüsyonu ile çözündürülmüş ve -20 °C’de saklanmıştır.



(a)

(b)

(c)



(d)

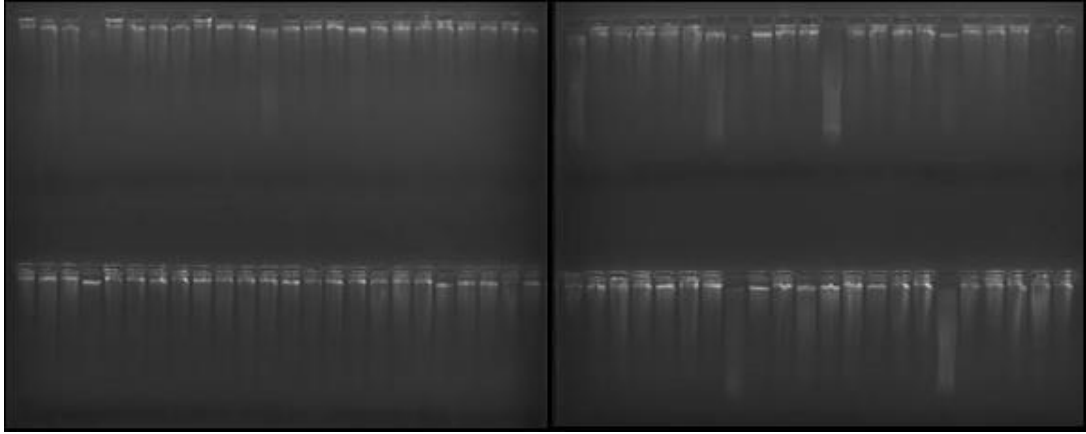
(e)

(f)

Şekil 3.2. a) TissueLyser II (Qiagen) kullanılarak örneklerin ezilmesi; **b)** Vortex işlemi; **c)** Örneklerin inkübe edilmesi; **d)** Santrifüj işlemi; **e)** Örneklerle alkol eklenmesi; **f)** Peletin kurutulması işlemi

3.2.2. DNA’nın saflık ve miktarının belirlenmesi

Elde edilen genomik DNA örnekleri, Thermo Scientific Multiskan GO spektrofotometre kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 3.4). 260 nm, 280 nm ve 230 nm’de ölçümler yapılarak DNA’nın kalitesi ve miktarı analiz edilmiştir. DNA miktarları 50 nanogram/mikrolitre olacak şekilde ayarlanmaya çalışılmıştır. İzole edilen DNA’lar %1’lik agaroz jelde yürütülerek görüntülerine bakılmıştır (Şekil 3.3). Elde edilen örnekler -20 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.3. Bazı genotiplerden elde edilen DNA'ların jel üzerinde görünümü



Şekil 3.4. DNA'nın kalitesini ve miktarını belirleyen spektrofotometre aleti

3.2.3. PCR çalışmaları

Bu çalışmada toplam 304 primer kullanılmış ve ana ebeveyn- baba ebeveynya göre polimorfik olan primerler dikkate alınmıştır. Kullanılan markör teknikleri ve sayıları Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan markörler ve sayıları

Markör sistemi	Toplam kullanılan primer /kombinasyon sayısı	Polimorfik primer	Monomorfik primer	Amplifikasyon elde edilemeyen primerler	Polimorfik bant sayısı
----------------	--	-------------------	-------------------	---	------------------------

Çizelge 3.2'nin devamı

ISSR	92	12	53	27	14
SRAP	65	9	43	13	11
SSR	116	22	86	8	44
TRAP	26	5	21	0	5
SCAR	5	1	3	1	2
Toplam	304	49	206	49	76

3.2.3.1. ISSR analizleri

Çalışmada toplam 92 adet ISSR primeri (Danin-Poleg vd. 2002; Levi vd. 2005; Yeboah vd. 2007; Parvathaneni vd. 2011) kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon koşulları Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. ISSR primerleri ve baz dizilimleri

No	Primerin adı	Baz dizilimi	No	Primerin adı	Baz dizilimi
1	112	AGA GGG CAC A	15	813	CTC TCT CTC TCT CTC TT
2	731	CCC ACA CCA C	16	814	CTC TCT CTC TCT CTC TA
3	801	ATA TAT ATA TAT ATA TT	17	815	CTC TCT CTC TCT CTC TG
4	802	ATA TAT ATA TAT ATA TG	18	816	CAC ACA CAC ACA CAC AT
5	803	ATA TAT ATA TAT ATA TC	19	817	CAC ACA CAC ACA CAC AA
6	804	TAT ATA TAT ATA TAT AA	20	818	CAC ACA CAC ACA CAC AG
7	805	TAT ATA TAT ATA TAT AC	21	819	GTG TGT GTG TGT GTG TA
8	806	TAT ATA TAT ATA TAT AG	22	823	TCT CTC TCT CTC TCT CC
9	807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	23	825	ACA CAC ACA CAC ACA CT
10	808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	24	826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
11	809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	25	827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
12	810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	26	829	TGT GTG TGT GTG TGT GC
13	811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	27	830	TGT GTG TGT GTG TGT GG
14	812	GAG AGA GAG AGA GAG AA	28	831	ATA TAT ATA TAT ATA TYA

Çizelge 3.3'ün devamı

No	Primerin adı	Baz dizilimi	No	Primerin adı	Baz dizilimi
29	832	ATA TAT ATA TAT ATA TYC	53	858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT
30	833	ATA TAT ATA TAT ATA TYG	54	859	TGT GTG TGT GTG TGT GRC
31	834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	55	860	TGT GTG TGT GTG TGT GRA
32	835	AGA GAG AGAG AGA GAG YC	56	861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC
33	837	TAT ATA TAT ATA TAT ART	57	862	AGC AGC AGC AGC AGC AGC
34	838	TAT ATA TAT ATA TAT ARC	58	863	AGT AGT AGT AGT AGT AGT
35	839	TAT ATA TAT ATA TAT ARG	59	864	ATG ATG ATG ATG ATG ATG
36	841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	60	865	CCG CCG CCG CCG CCG CCG
37	842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	61	866	CTC CTC CTC CTC CTC CTC
38	843	CTC TCT CTC TCT CTC TRA	62	867	GGC GGC GGC GGC GGC GGC
39	844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	63	868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA
40	845	CTC TCT CTC TCT CTC TRG	64	869	GTT GTT GTT GTT GTT GTT
41	846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	65	870	TGC TGC TGC TGC TGC TGC
42	847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	66	872	GAT AGA TAG ATA GAT A
43	848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	67	873	GAC AGA CAG ACA GAC A
44	849	GTG TGT GTG TGT GTG TYA	68	874	CCC TCC CTC CCT CCC T
45	850	GTG TGT GTG TGT GTG TYC	69	875	CTA GCT ACG TAG CTA G
46	851	GTG TGT GTG TGT GTG TYG	70	876	GAT AGA TAG ACA GAC A
47	852	TCT CTC TCT CTC TCT CRA	71	878	GGA TGG ATG GAT GGA T
48	853	TCT CTC TCT CTC TCT CRT	72	879	CTT CAC TTC ACT TCA
49	854	TCT CTC TCT CTC TCT CRG	73	880	GGA GAG GAG AGG AGA
50	855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	74	881	GGG GTG GGG TGGG GTG
51	856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	75	882	VBV ATA TAT ATA TAT AT
52	857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	76	883	BVB TAT ATA TAT ATA TA

Çizelge 3.3'ün devamı

No	Primerin adı	Baz dizilimi	No	Primerin adı	Baz dizilimi
77	884	HBH AGA GAG AGA GAG AG	85	892	TAG ATC TGA TAT CTG AAT TCC C
78	885	BHB GAG AGA GAG AGA GA	86	894	TGG TAG CTC TTG ATC AN
79	886	VDV CTC TCT CTC TCT CT	87	895	AGA GTT GGT ACG TCT TGA TC
80	887	DVD TCT CTC TCT CTC TC	88	896	AGG TCG CGG CCG CNN NNN NAT G
81	888	BDB CAC ACA CAC ACA CA	89	897	CGA CTC GAG NNN NNN ATG TGG
82	889	DBD ACA CAC ACA CAC AC	90	898	GAT CAA GCT TNN NNN NAT GTG G
83	890	VHV GTG TGT GTG TGT GT	91	899	CAT GGT GTT GGT CAT TGT TCC A
84	891	HVH TGT GTG TGT GTG TG	92	900	ACT TCC CCA CAG G-IT AAC ACA

Çizelge 3.4. ISSR analizleri PCR reaksiyon koşulları

Kullanılan kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
PCR master mix	15 µl
ddH ₂ O	7 µl
Primer	1 µl
DNA (20 ng)	1 µl
Toplam hacim	24 µl

PCR protokolü aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

94°C'de 2,5 dk

94°C'de 45 dk

48°C'de 45 sn

72°C'de 1,30 dk

72°C'de 10 dk

35 döngü

20 °C ∞

3.2.3.2. SRAP analizleri

Çalışmada 11 adet forward (ileri) ve 16 adet reverse (geri) SRAP primerleri kullanılarak toplam 65 farklı kombinasyon yapılmıştır (Li ve Quiros 2001; Ferriol vd. 2003; Yeboah vd. 2007; Yuan vd. 2008; Solmaz 2016). Kullanılan forward (ileri) primerlerinin isimleri ve baz dizimleri Çizelge 3.5'te, reverse (geri) primerlerinin ise Çizelge 3.6'da verilmiştir. Yapılan kombinasyonlar Çizelge 3.7'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon koşulları ise Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. SRAP analizlerinde kullanılan forward (ileri) primerleri

No	Primer adı	Baz dizilimi (3'-5')	No	Primer adı	Baz dizilimi (3'-5')
1	Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	7	Me9	TGAGTCCAAACCGGAGG
2	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	8	Me10	TGAGTCCAAACCGGAAA
3	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	9	Me11	TGAGTCCAAACCGGAAC
4	Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	10	Me12	TGAGTCCAAACCGGAGA
5	Me6	TGAGTCCAAACCGGACA	11	Me13	TGAGTCCAAACCGGAAG
6	Me8	TGAGTCCAAACCGGACT			

Çizelge 3.6. SRAP analizlerinde kullanılan reverse (geri) primerleri

No	Primer adı	Baz dizilimi (5'-3')	No	Primer adı	Baz dizilimi (5'-3')
1	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT	9	Em9	GACTGCGTACGAATTCAG
2	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC	10	Em10	GACTGCGTACGAATTCAT
3	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC	11	Em11	GACTGCGTACGAATTCTA
4	Em4	GACTGCGTACGAATTTGA	12	Em12	GACTGCGTACGAATTCTC
5	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC	13	Em13	GACTGCGTACGAATTCTG
6	Em6	GACTGCGTACGAATTGCA	14	Em14	GACTGCGTACGAATTCTT
7	Em7	GACTGCGTACGAATTCAA	15	Em15	GACTGCGTACGAATTGAT
8	Em8	GACTGCGTACGAATTCAC	16	Em16	GACTGCGTACGAATTGTC

Çizelge 3.7. SRAP primerleri ile yapılan kombinasyonlar

No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı
1	Me11-em2	18	Me4-em9	35	Me12-em9	52	Me12-em11
2	Me8-em9	19	Me3-em11	36	Me8-em15	53	Me12-em13
3	Me1-em10	20	Me9-em7	37	Me3-em16	54	Me12-em12
4	Me5-em5	21	Me3-em13	38	Me8-em4	55	Me1-em9
5	Me6-em14	22	Me3-em15	39	Me9-em13	56	Me2-em9
6	Me3-em5	23	Me5-em9	40	Me8-em16	57	Me12-em15
7	Me2-em11	24	Me9-em16	41	Me9-em15	58	Me11-em13
8	Me12-em15	25	Me6-em9	42	Me6-em15	59	Me13-em9
9	Me3-em1	26	Me8-em7	43	Me3-em7	60	Me8-em8
10	Me3-em2	27	Me8-em6	44	Me10-em9	61	Me3-em14
11	Me3-em3	28	Me8-em2	45	Me1-em11	62	Me11-em8
12	Me3-em6	29	Me8-em3	46	Me2-em11	63	Me3-em16
13	Me9-em8	30	Me8-em10	47	Me11-em9	64	Me9-em6
14	Me3-em8	31	Me9-em9	48	Me8-em11	65	Me6-em7
15	Me3-em10	32	Me9-em10	49	Me6-em5		
16	Me3-em12	33	Me8-em13	50	Me12-em4		
17	Me3-em9	34	Me8-em5	51	Me11-em11		

Çizelge 3.8. SRAP analizleri PCR reaksiyon koşulları

Kullanılan kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
PCR master mix	15 µl
ddH ₂ O	7 µl
Em (reverse) primer	1 µl
Me (forward) primer	1 µl
DNA (20 ng)	1 µl
Toplam hacim	25 µl

PCR protokolü aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

94°C'de 5 dk

94°C'de 1dk
35°C'de 1 dk
72°C'de 1dk

5 döngü

94°C'de 1dk
50°C'de 1 dk
72°C'de 1dk
72°C'de 5 dk

35 döngü

20 °C ∞

3.2.3.3. SSR

Çalışmada toplam 116 adet SSR primeri (Katzir vd. 1996; Danin-Poleg vd. 2001; Monforte vd. 2003; Fukino vd. 2008; Watcharawongpaiboon ve Chunwongse 2008; Yuste-Lisbona vd. 2011; Malik vd. 2011; Kacar vd. 2012; Solmaz vd. 2016) kullanılmıştır (Çizelge 3.9). Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon koşulları Çizelge 3.10'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. SSR primerleri ve baz dizilimleri

No	Primer adı	Baz dizilimleri	No	Primer adı	Baz dizilimleri
1	CMGA165-15	F: CTT GTT TCG AGA CTA TGG TG R: TTC AAC TAC AGC AAG GTC AGC	4	CM05	F: TCC AAC GAA ATC CCA CTG TT R: AGC CGT TCT TCC GGA TAG TT
2	CM01	F: TTG GAG GAG ACA AAG GCA TC R: TGC TTC AAC CTC TTC TTC TGG	5	CM07	F: TTT CCC GCA TTG ATT TTC TC R: GAG AAA CGC TTC CCA CAA AC
3	CM04	F: CAT GGC GAT GTT TTC TTT CA R: AAG GGA AAA TTT TGG AAG TGG	6	CM09	F: GTC AAA AGC ATC AGC AGC AA R: CAA GTT AGG CAA ACC CCA AA

Çizelge 3.9'un devamı

No	Primer adı	Baz dizilimleri	No	Primer adı	Baz dizilimleri
7	CM15	F: ACC ATC CTC CCT TCC AAA TC R: CAG AGA AGC AAG TGC AGC AG	19	CM43	F: CTC TTC CAA TCA CCG CCT CT R: AAG GAG GAG CAT GAG GGA AT
8	CM16	F: TGC CTG TTG TGA TTG AGG AG R: TTC TTC TTA CCT CCG CCA AA	20	CM46	F: GCT CCG GCA AAC CTT TTT AT R: GTG GAC ACG GTG ATC ACA AA
9	CM17	F: CCT TCA TCA TCA TCA TCG TCA R: GAC CGG CAG TGG ACA TAG TT	21	CM49	F: CCC CAT CAG TAA AGA TGA TGA A R: TCT TTG TTT CTT CAA TGG GGT A
10	CM21	F: CGG GGA ATT TGT GCT CTA TG R: CCC AAA CAA AGC CAA AAG AA	22	CM53	F: CTG CCG TGA AGG AGA AGA AC R: AGC CTC AAT CCC CAA TCT CT
11	CM22	F: AAG GAT TTG GTG GTG CTG AC R: TTT CCA TCT TGG CTC CAA AC	23	CM55	F: CCT CTC TCT TTC CCC ACC TC R: GAA ACA GAA GGA GCC ACA GC
12	CM23	F: TTC TTC ATT TAG GGG CAC TG R: AAA GGG GGC TCA ACA TTT TT	24	CMTC158-2	F: CCC CCA TAT TCA TCA AAA CT R: TCA GCT CAC TTT TCC ATT CA
13	CM26	F: CCC TCG AGA AAC CAG CAG TA R: CAC CTC CGT TTT TCA TCA CC	25	CSLHCPA-3	F: TTC TCC ATG TTT GGA TTC TTT R: ACC ACA AAT AAT AAT TCA ACA
14	CM28	F: GCC GCT GTA ACG AAT AAT GG R: GAA GAA AAC AGG GCA TCC AA	26	CMBR15	F: TAT GAA GCG CGC ATA AAC AG R: CGA ATG TGA AAT CTC TTC TCC C
15	CM30	F: TCA AAC CTA AAC CCT AAA CCT AAC C R: AGG ATG ATC GGG GAA GAA AT	27	CMBR123	F: TCC GAA GTA AAC ATC AAA GAC A R: GGT CAG TCA AGA TAG TTA CGG TTG
16	CM33	F: TTG GCT TTT GGC TAA TCT CC R: TGA AGG GGT AAA AAG GTT AAA AA	28	MU12	F: TTG GTT TCA TCG TCT TTC CC R: AAG TGC GAG GAG GCA GAG TA
17	CM38	F: TAG CAT CTG ATC GGA AAA CC R: CAA CTT CAT CCG CCA AGA AT	29	CMBR120	F: CTG GCC CCC TCC TAA ACT AA R: CAA AAA GCA TCA AAA TGG TTG
18	CM39	F: GAT TTC CCC TCC GAA CTC TC R: TTG CCC TAA AAC CCT CAC AC	30	CMBR8	F: TTT CAC TTT TTC CCG CCG R: AAT GGA AAA GGG AAG TGC AA

Çizelge 3.9'un devamı

No	Primer adı	Baz dizilimleri	No	Primer adı	Baz dizilimleri
31	CMCCA145-10	F: GAG GGA AGG CAG AAA CCA AAG R: GCT ACT TTT GTG GTG GTG G	43	CSATT214-22	F: TTG AGT ACC ATT GTC ATA GAT R: TTA GTT TAA TTT CAT CTC TGT
32	CMGA172-11	F: CAA TCG CAG ATA CTT CCA CG R: TGC TTG TCC CAA CGG TGT CAT	44	CSHPRAG-4	F: GTT TAA CTC AAT CCA ACT CAA R: CGA AAC ATT CAT AAC TCT ACT
33	CMCT123-12	F: CGG ATT GTA CTT ATT GCC AAG R: CAT GTG CAT GTG TGC ATG TAC	45	CMCT44-6	F: TCA ACT GTC CAT TTC TCG CTG R: CCG TAA AGA CGA AAA CCC TTC
34	CMCTN2	F: CTG AAA GCA GTT TGT GTC GA R: AAA GAA GGA AGA GGC TGA GA	46	CMAcc146-7	F: CAA CCA CCG ACT ACT AAG TC R: CGA CCA AAC CCA TCC GAT AA
35	CMGAN3	F: GTT AAA GGC TAT GGT ATA GAA C R: AGA ATA AGG TCC ACA TAA GG	47	SSR154	F: CCC TTC TGT CAT TTG GCT TG R: CGT CAA TTA TTA AAC ATT CTG ATG C
36	CS27	F: GCT GAG TTA TGG GGA AAG CA R: ATG TTG TTG GAC CCC TTC AA	48	SSR178	F: TTC GTT CAT TAC TGC CGT AGG R: TCT GTG TTC CCT ACC CCA AC
37	CMCTT144-8	F: CAA AAG GTT TCG ATT GGT GGG R: AAA TGG TGG GGG TTG AAT AGG	49	SSR180	F: GGA TTT GTT TGC GTC ATT TTG R: GGG GCA TTT TTG GTA TTT TC
38	CMAT141-9	F: AAG CAC ACC ACC ACC CGT AA R: GTG AAT GGT ATG TTA TCC TTG	50	SSR181	F: AAA TCG AAG CCC AGT GAA AG R: TCT GGC TGG GAA TAT GAT TG
39	ECM218	F: TCC TTT CCG GTT TGT GCT AAT R: GGA CCA AAC ATG GTT GAA AAG	51	SSR184	F: AGC TTA TGT CAA CGA GGT TGG R: CCT CCA ACA AAA GAT GAC ACT G
40	CSCT335-21	F: CCT TCA CTT CCA TCT TCA TC R: CGG TCC TTC ATT TCA TAG AC	52	SSR281	F: AGT TTG AAG GTG CTG CTT GAC R: AGA CAA GCC CAC AAC GAA TC
41	CSATT214-22	F: TTG AGT ACC ATT GTC ATA GAT R: TTA GTT TAA TTT CAT CTC TGT	53	SSR430	F: CCA TCA TGA TTT GGA ATG AAT TAG R: CGT TGC AAT TTG ATC TTT TTA ATG
42	CMGAN80	F: ATA TTG ATT GCT GGG AAA GG R: CTT TTT TGG CTT TAT TGG GTC	54	SSR451	F: CGT GAG AAA GTA CAA TGA TTG GTG R: GCC AAG CTA AGC AAT TAG GC

Çizelge 3.9'un devamı

No	Primerin adı	Baz dizilimleri	No	Primerin adı	Baz dizilimleri
55	SSR02734	F: TGT TGT TGG ACC CCT TCA AT R: TGT CAA AGG AGG AGG TGG AG	66	CMCACC146	F: TTA CTG GGT TTT GCC GAT TT R: AAT TCC GTA TTC AAC TCT CC
56	SSR02733	F: TTG TTA GGT AAG CCA TGC CC R: TTT GCC TGA GGA AGA ATC TGA	67	CMGA165	F: CTT GTT TCG AGA CTA TGG TG R: TTC AAC TAC AGC AAG GTC AGC
57	SSR138	F: GAC ACG ACC TGA TCC ATG TG R: CCA CAT GTT GAA TGA TGA GGA	68	CMTC51	F: ATT GGG GTT TCT TTG AGG TGA R: CCA TGT CTA AAA ACT CAT GTG G
58	SSR203205	F: ATG AAC CCA AAG AAA ACA AA R: TAA GAA AGT TCT GCA TGA GA	69	CMAT141	F: AAG CAC ACC ACC ACC CGT AA R: GTG AAT GGT ATG TTA TCC TTG
59	SSR219093	F: CAT TTT GCA GAC AAG TTT TA R: GAT ATG GTT TGG TTG GTC GT	70	CMCT160A	F: GTC TCT CTC CCT TAT CTT CCA R: ACG GTG TTT GGT GTG AGA AG
60	SSR252089	F: TCA AAT CCT AAA CCC TAA AC R: ATG CAC CTA CTT GTT GTT GT	71	CMCT44	F: GGC AAG ACG ATT GGC AGC R: ATC ACC GTA GCG AAG CAC C
61	SSR268176	F: CAT GAA GTA TAA ATA GTT TG R: CAC AAT CCT ACA CTT TGC TA	72	CMCCA145	F: GAG GGA AGG CAG AAA CCA AAG R: GCT ACT TTT GTG GTG GTG G
62	SSR283138	F: TTT ATT TGT AAC ATC GTG GC R: TCT CAA ACT TAC TGC ATA CT	73	CMCT170b	F: ATT GCC CAA CTA AAC TAA ACC R: CAC AAC ACA ATA TCA TCC TTG
63	SSR310365	F: GGC GAT GGA TGA AAG TTA GT R: AGA AGG AGG ATT ATT GGG TT	74	CMTC163	F: CTA AAA CCT AAC TCT TTT CC R: TTT GTG GGA CTC GTT GAA TGA
64	SSR37253	F: AAA AGA GCT GAA ATC GAA CA R: TAT TGC CTT TCT CGT CTC TT	75	CMGA172	F: CAA TCG CAG ATA CTT CCA CG R: TGC TTG TCC CAA CGG TGT CAT
65	SSR433600	F: ATA GAT GTA GTC GAG GTT GAA R: AGA GGC AGA AAT GGT GAA AT	76	CSCCT571	F: CCT TTC TGC TGT TTC TTC TTC R: GAA GGA AGG AGT GAG GGG AAG

Çizelge 3.9'un devamı

No	Primerin adı	Baz dizilimleri	No	Primerin adı	Baz dizilimleri
77	CMGT108	F: CTC CTT CAA ACA TTG TGT GTG R: GAG ATA GGT ATAG TAT AGG GG	88	CMTC123	F: CGG ATT GTA CTT ATT GCC AAG R: CAT GTG CAT GTG TGC ATG TAC
78	CMGA104	F: TTA CTG GGT TTT GCC GAT TT R: AAT TCC GTA TTC AAC TCT CC	89	CSAT425	F: TAG GGC AGG TAT TAT TTC AG R: ACG GAC TGA TTT AGT ATA GGC
79	CMTA134a	F: ACG TGC TTC AGT AAA CAT G R: CCG ACA TTG AAA ACC AAC TTC	90	CMAT35	F: GTG GGT CAT CAT TAT TGT TA R: GCT TTT AGC CTA TTA AGT TGC
80	CMCTT144	F: CAA AAG GTT TCG ATT GGT GGG R: AAA TGG TGG GGG TTG AAT AGG	91	CSGTT15b	F: ACC TTG TTG ATT CGG TTC TCC R: AGT TCG GTT TAA CTA CCC ACG
81	CMCT126	F: CTT TAG GTG TGA GAT TGG TGG R: GCA CAT CAT TGG AGT AAC TCG	92	CSCT335	F: CCT TCA CTT CCA TCT TCA TC R: CGG TCC TTC ATT TCA TAG AC
82	CMTAA166	F: GGA ACA GAC ACC TCT TCT GAG R: TCC GTC TAC AAG CGT GAC TGT	93	CSTCC813	F: GTT GTG CTC CCC AAT AGT TG R: CAC CAC TTC TTC CAC CGA A
83	CMTC168	F: ATC ATT GGA TGT GGG ATTCTC R: ACA GAT GGA TGA AAC CTT AGG	94	CMTC160a-b	F: GTC TCT CTC CCT TAT CTT CCA R: GAT GGT GCC TTA GTT GTT CCG
84	CMTC47	F: GCA TAA AAG AAT TTG CAG AC R: AGA ATT GAG AAG AGA TAG AG	95	CSCTTT15a	F: GTT TGA TAA TGG CGG ATT GT R: GTA GAA ATG AAG GTA TGG TGG
85	CMCT505	F: GAC AGT AAT CAC CTC ATC AAC R: GGG AAT GTA AAT TGG ATA TG	96	CMTA170a	F: TTA AAT CCC AAA GAC ATG GCG R: AGA CGA AGG ACG GTT AGC TTT
86	CMGA15	F: CGG CAA GAC GAT TGG CAG C R: ATC ACC GTA GCG AAG CAC C	97	CMCT134b	F: TTA AAT CCC AAA GAC ATG GCG R: TTC AAC TAC AGC AAG GTC AGG
87	CMTC158	F: CCC CCA TAT TCA TCA AAA CT R: TCA GCT CAC TTT TCC ATT CA	98	CMAG59	F: GGA ACA GAC ACC TCT TCT GAG R: CAC AAC ACA ATA TCA TCC TTG

Çizelge 3.9'un devamı

No	Primerin adı	Baz dizilimleri	No	Primerin adı	Baz dizilimleri
99	CMACC146	F: TTA CTG GGT TTT GCC GAT TT R: AAT TCC GTA TTC AAC TCT CC	108	DM0191	F: TTG AAG GTC TTT GCT GAA G R: GCC TAC CAC ATT TAA TTC C
100	CMCT44	F: GGC AAG ACG ATT GGC AGC R: ATC ACC GTA GCG AAG CAC C	109	MU7191	F: CTC TAT CAG CTC AAA GGC CG R: TTC GTC CTC GTT CTC TTG CT
101	CMBR111	F: TTT TCC TCC ATT TTA ACT TAG CC R: AAG AGA GAA GCC ATG GAT GAA	110	CSWTG08	F: GAG ATA GGT ATA GTA TAG GGG R: TCC GTC TAC AAG CGT GAC TGT
102	CMCT170b	F: ATT GCC CAA CTA AAC TAA ACC R: CAC AAC ACA ATA TCA TCC TTG	111	CSWCTI3B	F: CTC CTT CAA ACA TTG TGT GTG R: GAG ATA GGT ATA GTA TAG GGG
103	SSR12510	F: CAT AAC GTC ATC CCA TAA AT R: AGA TTG AAG GTT GAT TGG AC	112	SSR12202	F: AGA TTT GGA AGG ATG TTA GA R: AAG TCG GGT GGT AGT TGT TT
104	CMGA128	F: ATT GCC CAA CTA AAC TAA ACC R: CCG ACA TTG AAA ACC AAC TTC	113	CMMS30-3	F: TTC CCA CCA GCC CAA CGG ACA CAC T R: GAG ATA CAG AAA CGA CGT CTA ACC T
105	SSR12314	F: CTG GGG CAT ATT CTT TGT TA R: CGT AGT GGT ATG GTA GTG GC	114	SSR12407	F: TAA AAA TGA CCA TAG CAC C R: AAG TAA ATG GCA GAC AGA AC
106	CMCCA145	F: GAG GGA AGG CAG AAA CCA AAG R: GCT ACT TTT GTG GTG GTG G	115	CMCTL34b	F: TTA AAT CCC AAA GAC ATG GCG R: TTC AAC TAC AGC AAG GTC AGG
107	CMMS30-3	F: TTC CCA CCA GCC CAA CGG ACA CAC T R: GAG ATA CAG AAA CGA CGT CTA ACC T	116	SSR12608	F: TAA TGA TTT GTG GTT TGG TT R: ACA CTT TTG TTG GCT TTA TC

Çizelge 3.10. SSR analizleri PCR reaksiyon koşulları

Kullanılan kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
PCR master mix	15 µl
ddH ₂ O	7 µl
Reverse primer	1 µl
Forward primer	1 µl
DNA (20 ng)	1 µl
Toplam hacim	25 µl

PCR protokolü aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

94°C'de 5 dk

94°C'de 0.5 dk

53°C'de 0.5 dk

72°C'de 1dk

72°C'de 10 dk

35 döngü

20 °C ∞

3.2.3.4. TRAP

Çalışmada, 5 adet forward (ileri) ve 7 adet reverse (geri) TRAP primerleri kullanılarak toplam 26 farklı kombinasyon (Hu ve Vick 2003; Fazza vd. 2013) ile çalışılmıştır. Kullanılan forward (ileri) ve reverse (geri) primerlerinin isimleri ve baz dizilimleri Çizelge 3.11'de verilmiştir. Yapılan kombinasyonlar Çizelge 3.12'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon koşulları ise Çizelge 3.13'de verilmiştir.

Çizelge 3.11. TRAP analizlerinde kullanılan forward (ileri) ve reverse (geri) primerleri

No	Forward Primerleri	Baz dizilimi	No	Reverse primerleri	Baz dizilimi
1	Nbs2	CACCAATGCCTGTAGTTG	1	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
2	Nbs5	AAACCTTAGCCAAAGTCG	2	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
3	Nrta4	GGAAACCAGATTTGAAGC	3	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
4	Nbs467	GCTAGCCAATTTGAAGGT	4	Em6	GGAACCAAACACATGAAG A
5	Nbs458	TTGTTTCAGACACCCAAAC	5	Em9	GACTGCGTACGAATTCAG
			6	Ga3800	TCATCTCAAACCATATACA C
			7	Ga5800	GGAACCAAACACATGAAG A

Çizelge 3.12. TRAP primerleri ile yapılan kombinasyonlar

No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı	No	Kombinasyon adı
1	Em1-nbs5	8	Em2-nbs5	15	Ga5800-nrta4	22	Em6-nbs5
2	Em2-nbs2	9	Em2-nrta4	16	Ga3800-nrta4	23	Em5-nb3
3	Em3-nbs5	10	Ga3800-nbs5	17	Ga3800-nbs3	24	Em9-nbs5
4	Em1-nrta4	11	Em3-nbs458	18	Ga5800-nbs2	25	Em3-nbs3
5	Em1-nbs467	12	Em3-nbs467	19	Ga5800-nbs5	26	Em9-nrta4
6	Em2-nbs3	13	Ga3800-nbs467	20	Em1-nbs2		
7	Em3-nrta4	14	Ga5800-nbs3	21	Em1-nbs458		

Çizelge 3.13. TRAP analizleri PCR reaksiyon koşulları

Kullanılan kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
PCR master mix	8 µl
ddH ₂ O	3 µl
Arbitrary primer	0,5 µl
Fixed primer	0,8 µl
DNA (20 ng)	3,5 µl
Toplam hacim	15,5 µl

PCR protokolü aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

94°C'de 2 dk

94°C'de 45 dk
35°C'de 45 sn
72°C'de 1 dk

} 5 döngü

94°C'de 45 sn
50°C'de 45 sn
72°C'de 1dk
72°C'de 7 dk

} 35 döngü

20 °C ∞

3.2.3.5. SCAR

Çalışmada 5 SCAR primeri (Daryono vd. 2011) kullanılmıştır (Çizelge 3.14). Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon koşulları Çizelge 3.15’te verilmiştir.

Çizelge 3.14. SCAR forward ve reverse primer ve baz dizilimleri

No	Primer adı	Forward	Reverse
1	SB17 ₆₄₅	AGGGAACGAGTTGAGAGAGCT AGA	CGAGGATTCTTAAGTAGCATG GA
2	SV01 ₅₇₄	TGACGCATGGAATGAAATAAA	GCATGGCCAAGGTCGAATA
3	SV06 ₁₀₉₂	ACGCCCAGGTATCATATACACC	ACGCCCAGGTTACGAAGTCA
4	SCAPMAR5 ₁₀₆₁	CAGACAAGCCCAGATAATTAAC ATCTC	CAGACAAGCCTAGGAGTTGTG GGCT
5	SCAR0305	CCCTATGCTCATTAACCTCG	GCTGCATAATGCCTAGCTA

Çizelge 3.15. SCAR analizleri PCR reaksiyon koşulları

Kullanılan kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
PCR master mix	15 µl
ddH ₂ O	7 µl
Reverse primer	1 µl
Forward primer	1 µl
DNA (20 ng)	1 µl
Toplam hacim	25 µl

PCR protokolü aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

94°C’de 2.5 dk

94°C’de 45 sn
55°C’de 45 sn
72°C’de 1.30 dk

} 35 döngü

72°C’de 10 dk

20 °C ∞

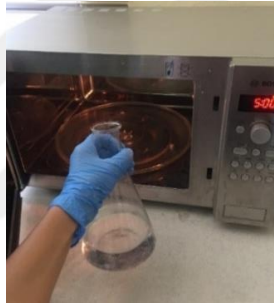
3.2.3.6. Agaroz jel elektrofarezi

PCR ürünlerinin elektrofareizde belirlenmesi için agaroz jel kullanılmıştır. Jel hazırlığında, 1X yoğunluğundaki TAE tampon çözeltisine, %2,5'lik high resolution agaroz ilave edilmiş ve 600 °C'de çalışan mikro dalga fırında 5-6 dakika kaynatılmıştır. Jel homojen bir görünüm sağlayınca mikro dalga fırından çıkartılarak oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Elle tutulabilecek kadar soğuyan jel önceden hazırlanmış tanklara dökülmüştür. Jel donduktan sonra 1X TAE çözeltisi içeren elektroferez tanklarında yerleştirilmiştir.

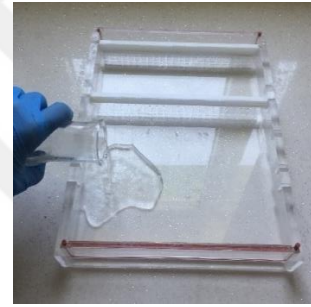
PCR işleminden sonra, PCR ürünlerine UV ışık altında görüntüleme cihazında görüntülenebilmesi için 1,5 µl EZ-vision yükleme boyası ilave edilmiştir. Daha sonra PCR ürünleri ve DNA bantlarının büyüklüklerinin belirleyebilmek için kullanılan 100 bp DNA ladder elektroferez tankındaki agaroz jele yüklenerek, 110 volt elektrik akımı altında 3 saat süreyle koşturulmuştur. Elektroferez işleminden sonra, jeller görüntüleme cihazına yerleştirilerek fotoğrafları kaydedilmiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 3.5. a) Agaroz jelin hassas tartı ile tartılması; **b)** Jelin mikrodalga ile eritilmesi; **c)** Jelin tanka dökülmesi; **d)** PCR ürünlerinin elektroforeze yüklenmesi; **e)** PCR ürünlerinin görüntülendiği ve fotoğraflarının çekildiği cihaz

3.2.3.7. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılmış olan SRAP, SSR, ISSR, TRAP ve SCAR primerlerin polimorfizm oranları, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması ile bulunmuştur.

3.2.3.8. Verilerin analizi

Jel görüntüleme sistemi kullanılarak elde edilen görüntüler, bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek skor edilmiştir. Kümelendirme, sayısal taksonomi ve multivaryasyon analizi yapabilen NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA) genetik analiz programı kullanılarak tartılmamış çift grup aritmetik ortalamayla (unweighted pair-group method, UPGMA) analiz edilmiştir (Rohlf 1993). Benzerlik indeksleri Dice (1945)'e göre hesaplanmıştır. Ayrıca temel koordinat analizi (Principal coordinate analysis, PCO) aynı program kullanılarak yapılmıştır. PIC değerleri Smith vd. (1997)'nin belirttiği gibi hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada küllemeye dayanıklılık amacıyla oluşturulan RIL popülasyonuna ait 138 genotip kullanılmıştır. RIL popülasyonu, F_2 bireylerinin defalarca kendilenerek ve tek tohum nesil (single seed descent) yöntemi ile oluşturulur (Taylor 1978). Kendileme sonucu heterezigot bireylerin kaybedilmesiyle homozigotluğa ulaşmakta ve dolayısıyla yeni rekombinantların oluşma şansı azalmaktadır. RIL bitki popülasyonları F_2 popülasyonlarına nazaran homolog başına iki kat daha fazla rekombinasyona ait bilgi içermektedir. Ancak yukarıda da ifade edildiği gibi RIL popülasyonu bireylerinde iki homolog birbirinin aynı olmasına karşılık, F_2 bireyleri her biri farklı bilgi sağlayan iki homologa sahiptirler. Dolayısıyla RIL bitkileri yakın bağlantıların ortaya konması açısından F_2 bitkileriyle hemen hemen aynı miktarda bilgi sağlarlar. Ancak, RIL popülasyonlarının en büyük avantajları çok sayıda birey elde edilebilmesi, farklı çevre koşullarında fenotiplerin gözlenebilmesi ve çalışmaların tekrarlanabilmesidir (Yıldırım ve Kandemir 2004).

4.1. ISSR Analizleri Bulguları

Çalışmada, RIL popülasyonuna ait 138 genotip üzerinde 92 adet ISSR primeri kullanılarak, popülasyondaki bireylerin ana ebeveyn(hassas)-baba ebeveyn(dayanıklı) ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 92 adet ISSR primerinden 12 tanesinden polimorfizm sağlanırken, 53 tanesi monomorfik bulunmuştur. 27 tanesinden ise amplifikasyon elde edilememiştir. Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan 12 adet ISSR primeri üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her primer için toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

ISSR analizlerinde kullanılan 12 adet ISSR primerinden büyüklükleri 300-1500 bp arasında değişen toplamda 80 adet allel elde edilmiştir. Bu allellerin 14 tanesinin polimorfik olduğu bulunmuştur. Primer başına düşen toplam allel sayısının 4 ile 9 (ortalama 6,67) arasında değiştiği, polimorfik allel sayısının 1 ile 2 (ortalama 1,17) arasında olduğu tespit edilmiştir. Toplam allel sayısı bakımından 809, 886 ve 887 primerlerinin en fazla (9 adet), 827 primerinin ise en az (4 adet) sayıda alleli ürettiği bulunmuştur. Primerlerin polimorfizm oranı %11-25 (ortalama 18) arasında değişim göstermiştir. 886 primerinin %11 ile en düşük, 827 primerinin %25 ile en yüksek polimorfizm oranına sahip olduğu bulunmuştur. Primerlerin PIC değerleri ise 0,13 ile 0,99 (ortalama 0,57) arasında değişim göstermiştir. 827 primeri 0,13 ile en düşük değere sahipken, 880 ve 842 primerleri 0,99 ile en yüksek PIC değerine sahiptir. Çalışmada kullanılan 811 primerinin agaroz jel görüntüleri Şekil 4.2’de verilmiştir.

Seleksiyonla elde edilen kavun genotipleri arasındaki farklılıkları ve benzerlikleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda, Danin-Poleg vd. (1998) 7 kavun genotipinde

kullandıkları 42 ISSR primerinin 26'sından, Sestili vd. (2008) İtalya'nın farklı bölgelerinden seçilmiş olan 13 adet inodorus kavun genotipinde 90 ISSR primerinin 39'undan polimorfizm elde etmiştir. Yaptığımız çalışmada ise melezleme yoluyla elde edilen RIL popülasyonuna ait 138 adet genotip üzerinde 92 adet ISSR primeri kullanılmış ve 12 adet polimorfizm elde edilmiştir. Polimorfizmin diğer çalışmalara göre az olmasının nedeni, kullanılan popülasyonun melezleme yoluyla elde edilip F₆ aşamasına kadar getirilerek saflaştırılmış olması olabilir.

Fabriki Ourang vd. (2009) İran'ın farklı bölgelerinden seçilmiş 54 adet kavun genotipinde 11 ISSR primerinden 63 polimorfik bant, Fuzhong vd. (2002)'nin yaptığı çalışmada ise 37 kavun genotipinde 10 ISSR primerinden 73 polimorfik bant, Mancak (2013)'ın yaptığı çalışmada 83 kavun genotipinde 13 ISSR primeri kullanılmış ve 79 polimorfik bant elde edilmiştir. Çalışmamızda ise 92 adet ISSR primerinden 14 adet polimorfik bant elde edilmiştir.

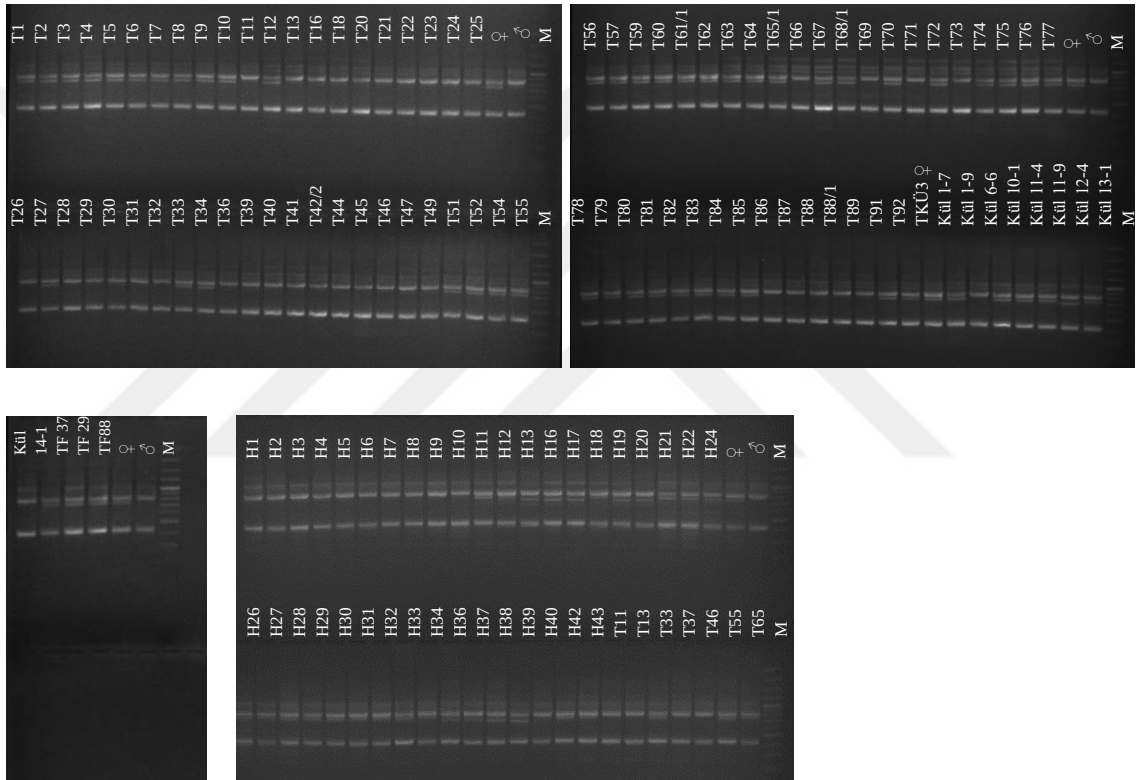
PIC değerleri, genellikle moleküler çalışmalarda markör lokusunun polimorfizmini ölçmek amacıyla kullanılır (Smith vd. 1997). PIC değeri 0 ile 1 arasında değişim gösterir. PIC değeri 0,7 ve üzerinde olursa markör oldukça yüksek bilgilendirici özelliktedir (Hildebrand ve ark. 1992). Fuzhong vd. (2002)'nin yaptığı çalışmada 37 kavun genotipinde 10 ISSR primerinde PIC değeri 0,53, Fabriki Ourang vd. (2009) İran'ın farklı bölgelerinden seçilmiş 54 adet kavun genotipinde yaptığı çalışmada 11 ISSR primerinde PIC değeri 0,84'dir. Bu çalışmada ise 12 ISSR primerinin PIC değeri 0,57 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Kullanılan ISSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
809	9	2	490-500	22	0,49
811	5	1	750	20	0,61
825	6	1	950	17	0,28
827	4	1	450	25	0,18
846	5	1	1000	20	0,78
861	7	1	1500	14	0,35
886	9	1	500	11	0,75
880	7	1	750	14	0,99
884	6	1	700	17	0,13

Çizelge 4.1'in devamı

887	9	2	800-300	22	0,47
900	7	1	750	14	0,82
842	6	1	550	17	0,99
Toplam	80	14	-	-	-
Ortalama	6,67	1,17	-	18	0,57



Şekil 4.1. 811 ISSR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)

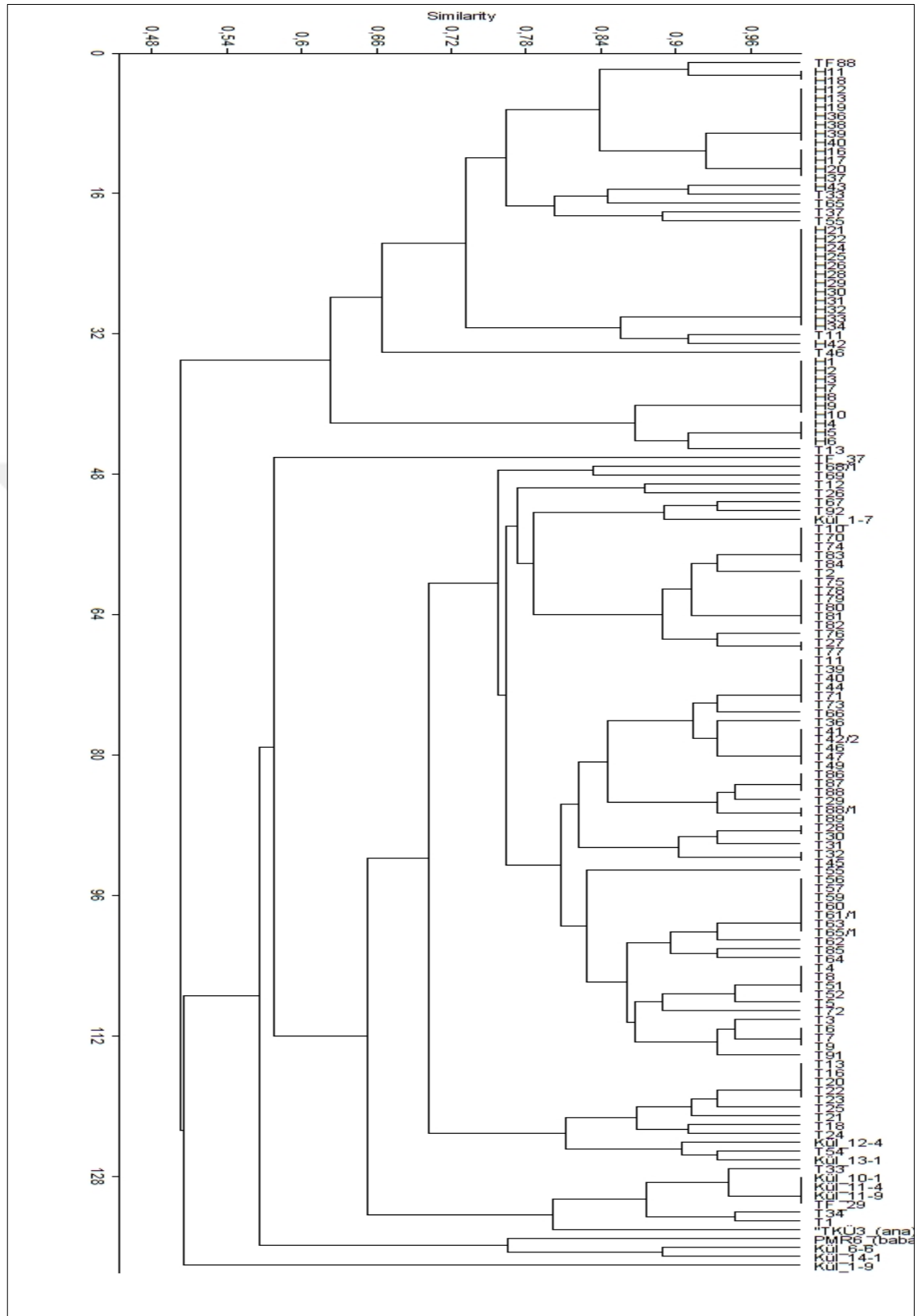
ISSR analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.2'de verilmiştir. Dice (1945)'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,48 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,78 olarak bulunmuştur. En yüksek genetik benzerlik oranı 0,95 ile, T86, T87, T88 ile T29 genotipleri, T4, T8, T51, T52 ile T5 genotipleri, T6, T7, T9 ile T3 genotipleri ve T34 ile T1 genotipleri arasında görülmüştür. Kü1-9 genotipi ise, 0,48 genetik benzerlik oranıyla RIL populasyonundaki 138 genotip içinde en uzak bireyi oluşturmaktadır. PMR6 genotipine en yakın iki genotip

0,76 genetik benzerlik oranı ile K l 6-6 ve K l 14-1'dir. T33, k l 10-1, kül 11-4, kül 11-9, TF29, T34 ve T1, 0,88 genetik benzerlik oranı ile TK 3'e en yakın genotiplerdir.

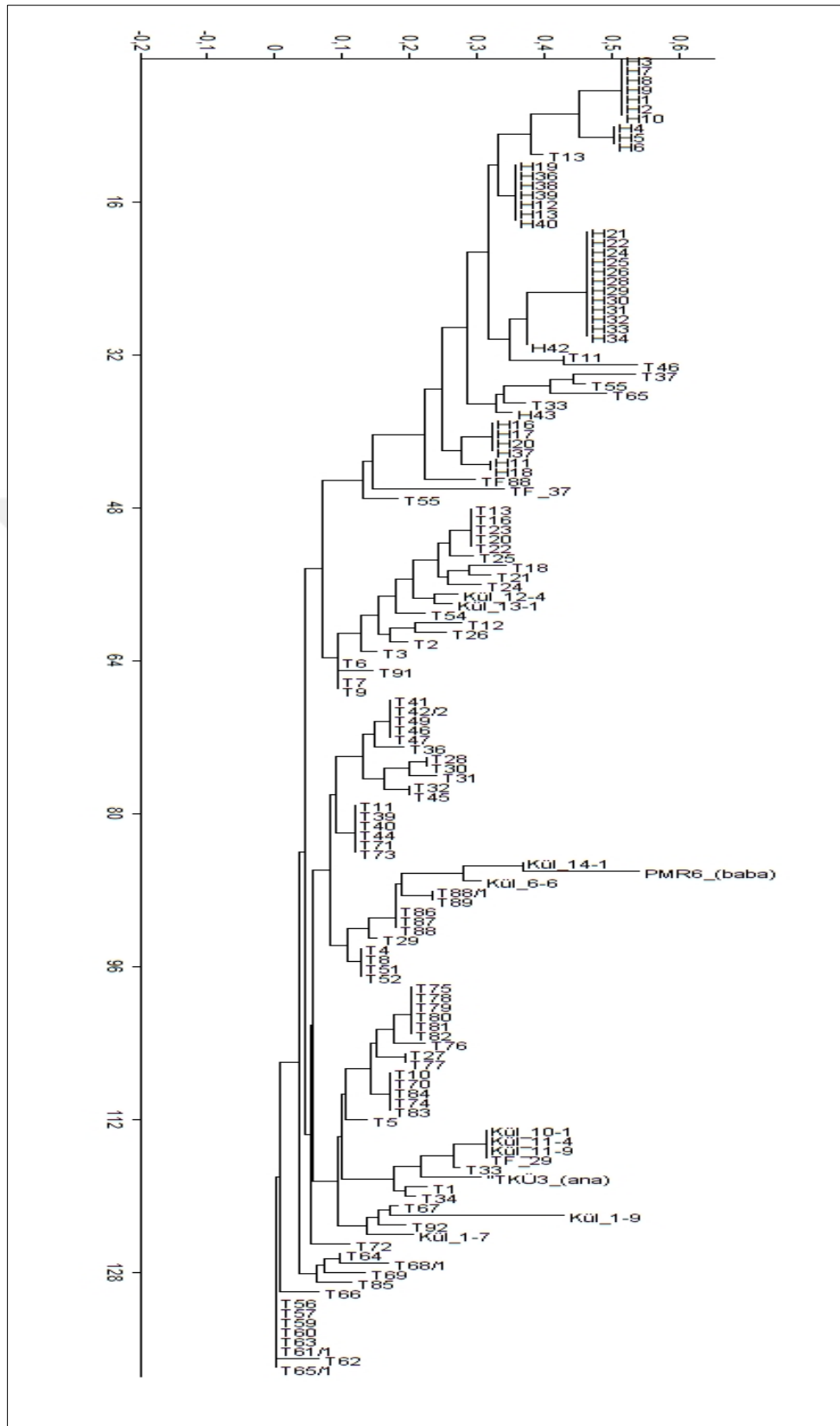
Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda PMR6, k l14-1, k l 6-6, T88/1, T89, T86, T87, T88, T29, T4, T8, T51, T52 genotipleri aynı grupta yer almışlardır. TK 3 ile T33, k l 10-1, kül 11-4, kül 11-9, TF29, T34 ve T1 genotipleri ise yine aynı grupta yer almıştır (şekil 4.3).

PCO sonucunda RIL popülasyonu içerisinde PMR6'nın ve TK 3' n diğerlerine en uzak genotip olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.4).

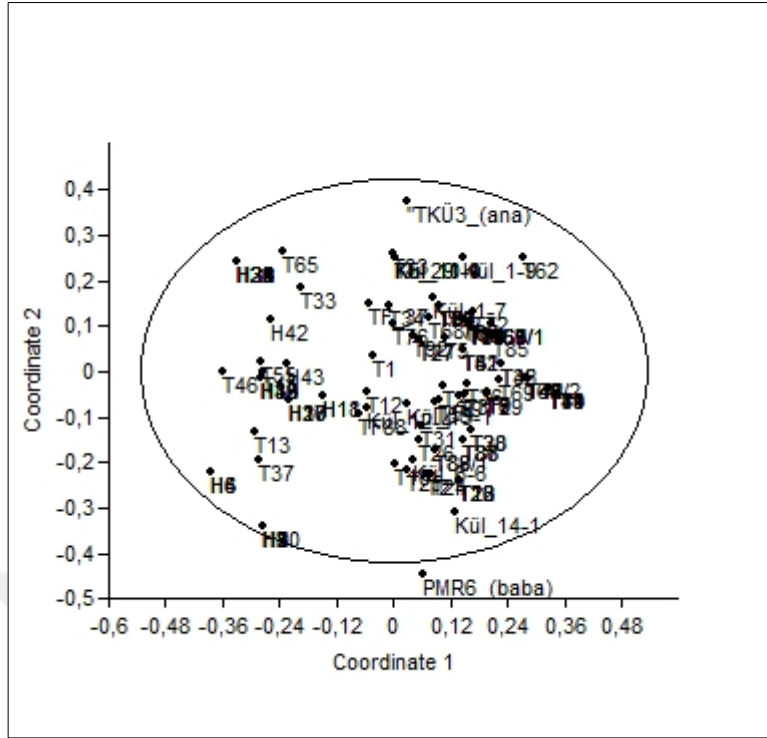




Şekil 4.2. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.3. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.4. ISSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik

4.2. SRAP Analizleri Bulguları

Çalışmada, SRAP tekniği ile 11 adet forward (ileri) ve 16 adet reverse (geri) primerleriyle toplam 65 farklı kombinasyon yapılarak popülasyondaki bireylerin ana ebeveyn(hassas)-baba ebeveyn(dayanıklı) ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Yapılan kombinasyonların 9 tanesinden polimorfizm sağlanırken, 43 tanesi monomorfik bulunmuştur. 13 tanesinden ise amplifikasyon elde edilememiştir. Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan 9 adet SRAP kombinasyonu üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her primer için toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Kullanılan 9 adet SRAP kombinasyonundan büyüklükleri 150-1000 bp arasında değişen toplamda 56 adet allel elde edilmiştir. Bu allellerin 11 tanesinin polimorfik olduğu bulunmuştur. Primer başına düşen toplam allel sayısının 4 ile 13 (ortalama 6,22) arasında değiştiği, polimorfik allel sayısının 1 ile 2 (ortalama 1,22) arasında olduğu tespit edilmiştir. Toplam allel sayısı bakımından me3-em6 kombinasyonu en fazla (13 adet), me3-em11, me3-em12, me12-em9, me9-em8 kombinasyonlarından ise en az (4 adet) sayıda allel ürettiği bulunmuştur. Primer kombinasyonlarının polimorfizm oranı %7-28 (ortalama 22) arasında değişim göstermiştir. me3-em6 kombinasyonu %7 ile en düşük,

me6-em5, me10-em9 kombinasyonları ise %28 ile en yüksek polimorfizm oranına sahiptir. Primer kombinasyonlarının PIC değerleri ise 0,38 ile 0,86 (ortalama 0,64) arasında değişim göstermiştir. me3-em8 kombinasyonu 0,38 ile en düşük değere sahipken, me3-em15 kombinasyonu 0,86 ile en yüksek PIC değerine sahiptir. Çalışmada kullanılan me3-em15 kombinasyonunun agaroz jel görüntüleri Şekil 4.5'te verilmiştir.

Yapılan moleküler karakterizasyon çalışmalarında, Ferriol vd. (2003), İspanya'nın yerel genotiplerinden oluşan *Cucurbita pepo*'ya ait 69 genotipte 11 SRAP primeri kombinasyonundan 88 bant elde etmiş ve 64'ünü polimorfik bulmuştur. Solmaz (2010)'ın karpuzda yaptığı çalışmada 93 genotipte 31 primer kombinasyonu çalışılmış ve 472 bant elde edilmiş ve bunun 461'i polimorfik bulunmuştur. İnan (2008)'ın 24 kavun genotipinde 8 SRAP primer kombinasyonu ile yaptığı çalışmada, 71 bant bulunmuş ve tamamı polimorfiktir. Gülşen vd. (2007) bamyada 23 genotipte 39 SRAP primer kombinasyonu kullanarak 97 bant elde etmiş ve bunlarında yarısını polimorfik bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada RIL popülasyonuna ait 138 genotipte 65 farklı SRAP primer kombinasyonu kullanılarak genetik ilişkiler araştırılmıştır. 9 adet SRAP primer kombinasyonundan toplam 56 allel elde edilmiş ve bunların 11 adeti polimorfik bulunmuştur.

Çalışmamızda, me3-em6 primer kombinasyonunda, 13 allel elde edilmiş ve sadece 1 tanesi (%7) polimorfiktir. Solmaz (2010)'ın karpuzda yaptığı çalışmada aynı primerden, 17 allel elde edilmiş ve tamamı polimorfik (%100) bulunmuştur.

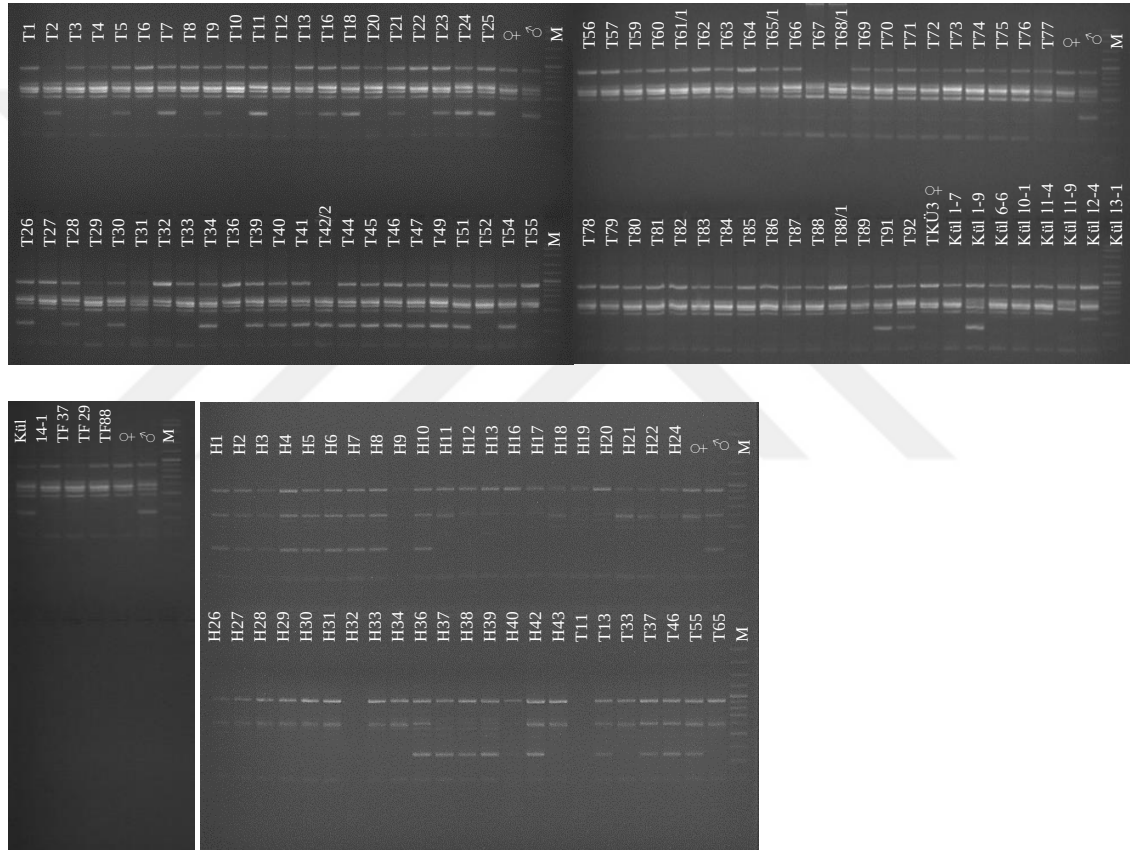
SRAP primer kombinasyonlarının ortalama toplam allel sayısı 6,22, ortalama polimorfik allel sayısı 1,22'dir. Solmaz (2010)'ın çalışmasında ortalama toplam allel sayısı 15,2, ortalama polimorfik allel sayısı 14,9, İnan (2008)'ın çalışmasında ise ikiside 8,88'dir. İnan (2008)'ın kullandığı primerlerin PIC değeri ortalama 1,27 iken, bu çalışmada kullanılan primerlerin ortalama PIC değeri 0,64'tür.

Çizelge 4.2. Kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
me3-em6	13	1	850	7	0,6
me3-em8	9	1	300-1000	11	0,38
me3-em11	4	1	600	25	0,73
me3-em12	4	1	180	25	0,7
me3-em15	5	1	350	20	0,86

Çizelge 4.2'nin devamı

me6-em5	7	2	150-1000	28	0,81
me10-em9	7	2	150-400	28	0,54
me12-em9	4	1	500		0,39
me9-em8	4	1	800	25	0,83
Toplam	56	11	-	-	-
Ortalama	6,22	1,22	-	22	0,64



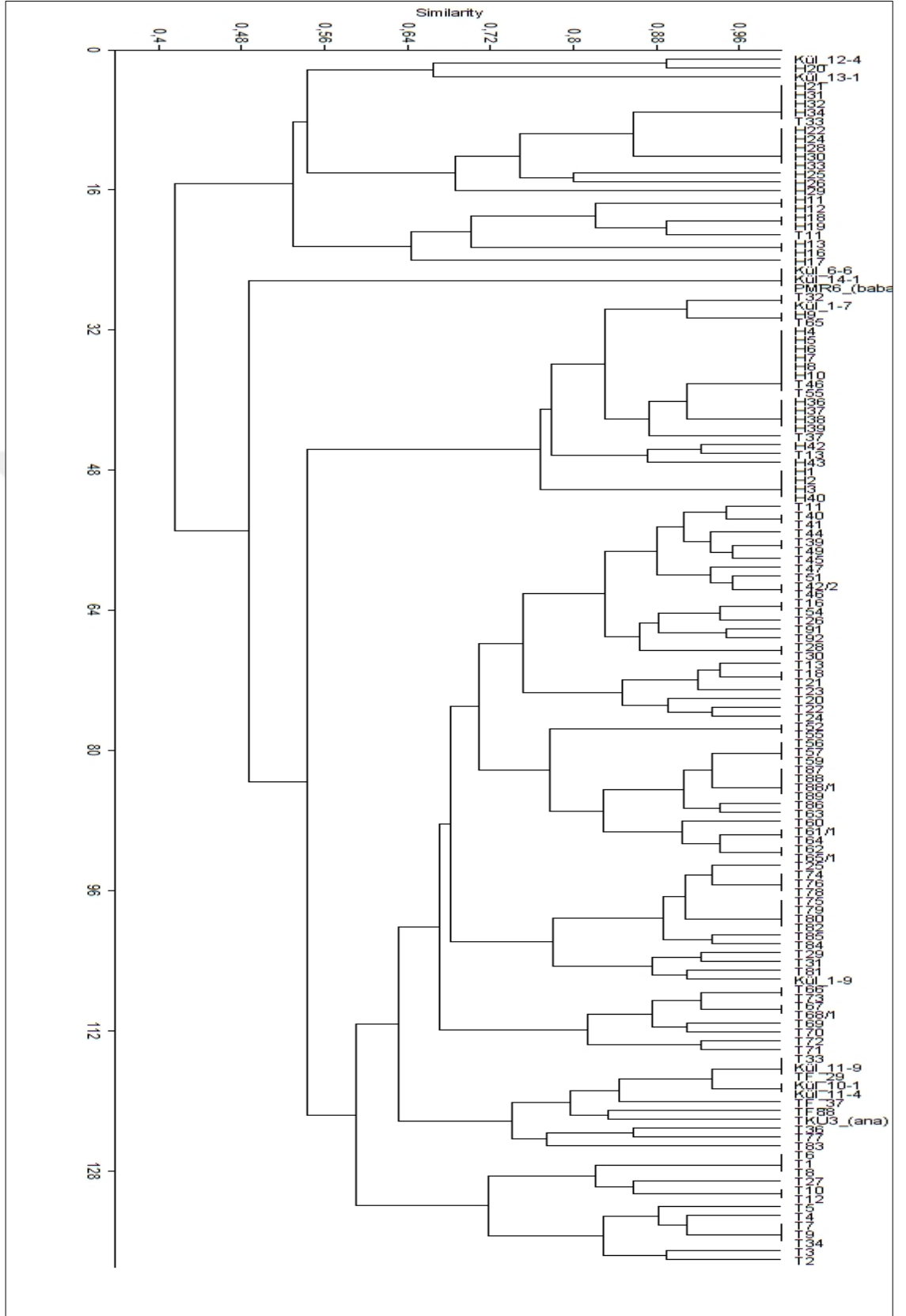
Şekil 4.5. me3-em15 SRAP primer kombinasyonu agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)

SRAP analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.6'da verilmiştir. Dice (1945)'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,41 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,71 olarak bulunmuştur. Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta TKÜ3 ve PMR6

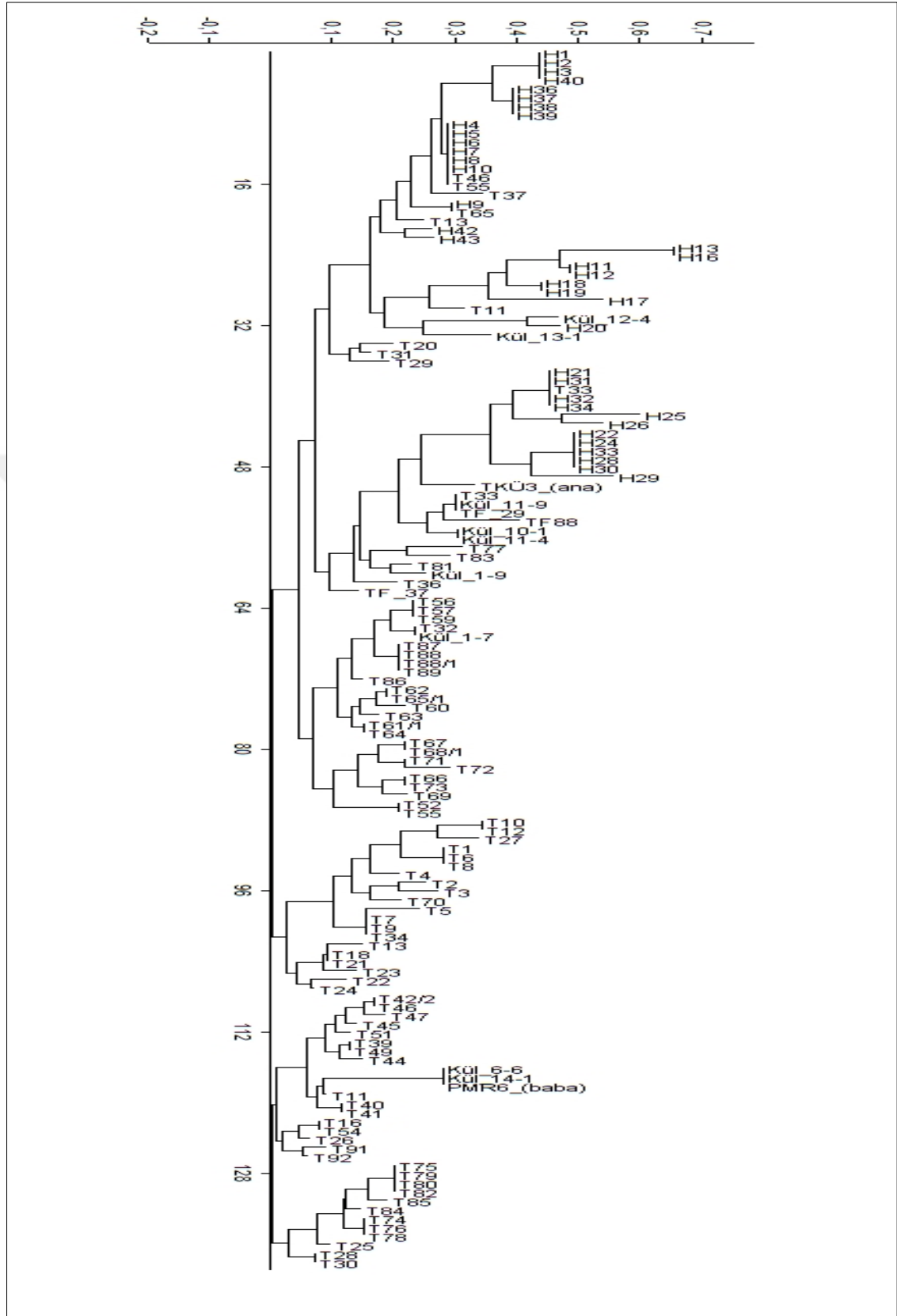
birlikte yer almıştır. En yüksek genetik benzerlik oranı 0,95 ile ikinci grupta yer alan T39, T49 ve T45 genotipleri arasında görülürken yine aynı oranla T42/2, T46 ve T51 genotipleri arasındada görülmüştür. TK3'e en yakın genotip 0,83 genetik benzerlik oranı ile TF88'dir. PMR6, Kl 6-6 ve Kl 14-1 genotiplerinin 0,49 genetik benzerlik oranı ile popülasyondaki diğerk bireylere olan uzaklıkları belirlenmiştir.

Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda PMR6, kl14-1, kl 6-6, T11, T40, T41, T 44, T42/2, T46, T47, T45, T51, T39, T49 genotipleri aynı grupta yer almışlardır. TK3(ana ebeveyn) ile H29, H30, H28, H33, H24, H22, H26, H25, H21, H31, T33, H32 ve H34 genotipleri aynı grupta yer almıştır (şekil 4.7).

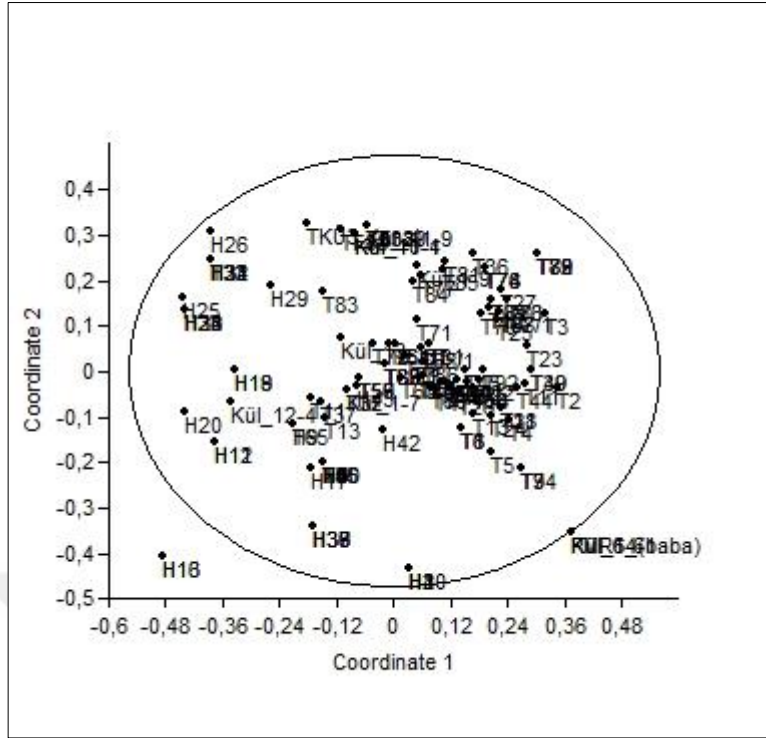
PCO sonucunda RIL popülasyonu içerisinde PMR6'nın diğerklerine en uzak genotip olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.8).



Şekil 4.6. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.7. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.8. SRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik

4.3. SSR Analizleri Bulguları

Çalışmada, küllemeye dayanıklılık amacıyla oluşturulan RIL popülasyonuna ait 138 genotip üzerinde 116 adet SSR primeri kullanılarak, popülasyondaki bireylerin ana ebeveyn(hassas)-baba ebeveyn(dayanıklı) ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 116 adet SSR primerinden 22 tanesinden polimorfizm sağlanırken, 86 tanesi monomorfik bulunmuştur. 8 tanesinden ise amplifikasyon elde edilememiştir. Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan 22 adet SSR primeri üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her primer için toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

SSR analizlerinde kullanılan 22 adet SSR primerinden büyüklükleri 120-350 bp arasında değişen toplamda 44 adet allel elde edilmiş ve bu allelerin tamamı polimorfik bulunmuştur. Primer başına düşen toplam allel sayısı ve polimorfik allel sayısı aynıdır. Her bir primerden 2 tane allel elde edilmiştir. Primerlerin polimorfizm oranı %100 olarak bulunmuştur. Primerlerin PIC değerleri ise 0,58 ile 0,75 arasında değişim göstermiştir. SSR12202 primeri 0,58 ile en düşük değere sahipken, CM07, CM15, CMACC146, CMGA104, CMCT170b, SSR12314 primerleri 0,75 ile en yüksek PIC değerine sahip ve

yüksek bilgilendirici özelliktedir. Çalışmada kullanılan CMCTT144-8 primerinin agaroz jel görüntüleri Şekil 4.9'da verilmiştir.

Yapılan genetik çeşitlilik çalışmalarında, Tzitzikas vd. (2009) Yunan ve Kıbrıs kavunları arasında 17 SSR primerinden toplam 81 polimorfik allel elde etmiş ve primer başına ortalama allel sayısını 2,47 olarak bulmuştur. Dhillon vd. (2007)'nin Hindistan'da yapılan kavunları (*C. melo* var. *momordica*) arasında SSR primerleri ile yaptığı bir çalışmada toplam 232 polimorfik allel elde edilmiş ve primer başına ortalama allel sayısı 10,3 olarak bildirilmiştir. Danin-Poleg vd. (2001)'nin 13 adet kavun ve 11 adet hıyarda 40 SSR primeri ile yaptığı çalışmasında, kavundan 118 allel, hıyardan ise 53 allel üretilmiş ve kavunda primer başına 6 allel, hıyarda ise 5 allel düşmüştür. Monforte vd. (2003)'nin çalışmasında 27 genotipte 18 SSR primerinden 114 polimorfik allel üretilmiş ve primer başına düşen allel sayısı 6,3'tür. Kaçar vd. (2012) 96 kavun genotipinde 20 SSR primerinde 123 polimorfik allel ürettiğini ve primer başına ortalama allel sayısının 6,15 olduğunu bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada ise melezleme yoluyla elde edilen RIL popülasyonuna ait 138 adet genotipin ana ebeveyn-baba ebeveyn ile olan genetik ilişkisini belirleyebilmek için SSR primeri kullanılmıştır. Polimorfik olduğu tespit edilen 22 SSR primerinden, 44 polimorfik allel elde edilmiş ve primer başına düşen ortalama allel sayısı 2 olarak bulunmuştur. Primer başına düşen allel sayısının az olmasının sebebi, kullanılan popülasyonun seleksiyon yolu ile değil de melezleme yoluyla elde edilmiş olması olabilir.

Kaçar vd. (2012)'nin yaptığı genetik çeşitlilik çalışmasında kullanılan SSR primerlerinin polimorfizm oranı %97, Katzir et al. (1996)'nin çalışmasında %71, Danin-Poleg vd. (2001)'nin %86, Lopez-Sese vd. (2002)'nin %76, Solmaz (2010)'ın ise %100 olarak bulunmuştur. Polimorfizm oranının diğer çalışmalara göre yüksek olmasının sebebi kullanılan genotip sayısının fazla olması olabilir (Monforte vd. 2003).

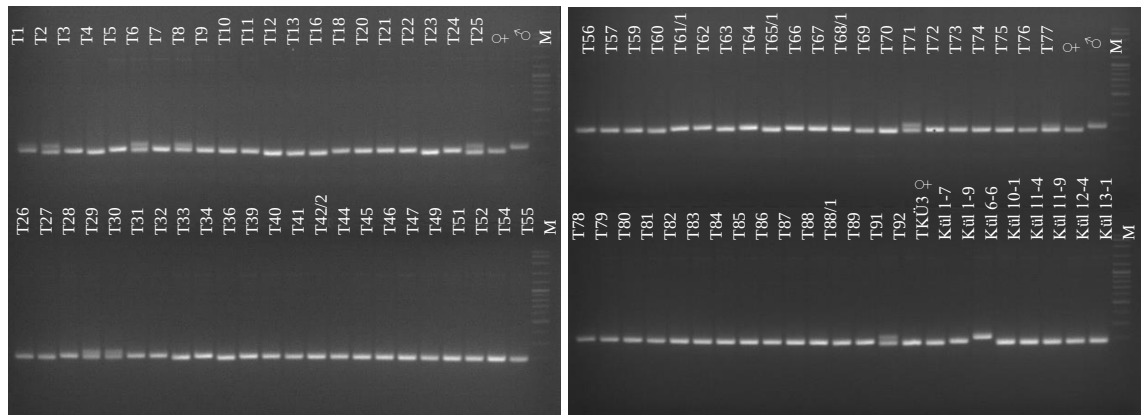
Çalışmamızda kullanılan primerlerden CMACC146'dan 2 allel, Solmaz (2010)'ın karpuzda yaptığı çalışmada ise 3 allel elde edilmiştir. Aynı primerle farklı türlerde yapılan çalışmalarda, Staub vd. (2000) 2 allel, López-Sesé vd. (2002) 2 allel, Nakata vd. (2005) 3 allel, Garcia-Mas vd. (2004) 11 allel elde etmiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, bu çalışmada elde edilen allel sayısının normal olduğu görülmektedir.

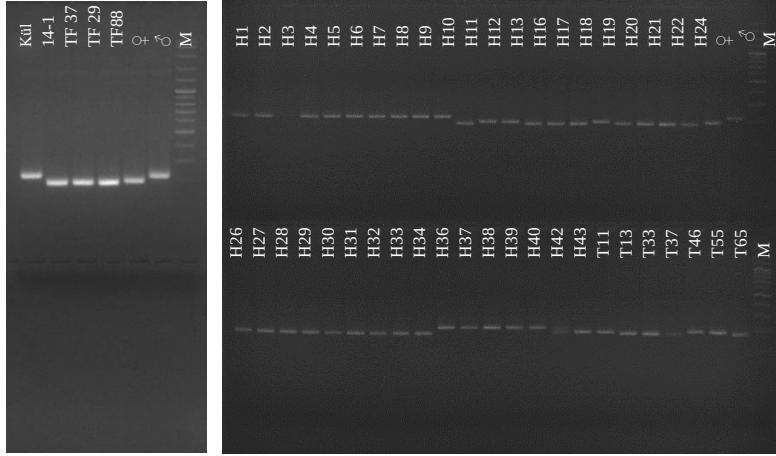
Çizelge 4.3. Kullanılan SSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
CM07	2	2	200-190	100	0,75
CM15	2	2	240-220	100	0,75

Çizelge 4.3'ün devamı

CMCTT144-8	2	2	220-190	100	0,6
SSR430	2	2	350-300	100	0,69
SSR12202	2	2	250-220	100	0,58
CM22	2	2	300-280	100	0,74
CMCT134b	2	2	180-150	100	0,7
CMTA134a	2	2	180-160	100	0,71
CMCTT144	2	2	220-180	100	0,74
CMGAN80	2	2	170-150	100	0,62
DM0191	2	2	180-160	100	0,72
MU7191	2	2	160-140	100	0,68
CM28	2	2	160-150	100	0,72
CMACC146	2	2	160-140	100	0,75
CMGA104	2	2	160-140	100	0,75
CMCT170b	2	2	180-170	100	0,75
CMGA172-11	2	2	130-120	100	0,74
CMMS30-3	2	2	300-280	100	0,74
CMTA170-a	2	2	150-130	100	0,74
MU12	2	2	250-230	100	0,64
SSR12314	2	2	170-150	100	0,75
CM53	2	2	150-130	100	0,71
Toplam	44	44	-	-	-
Ortalama	2	2	-	100	0,71



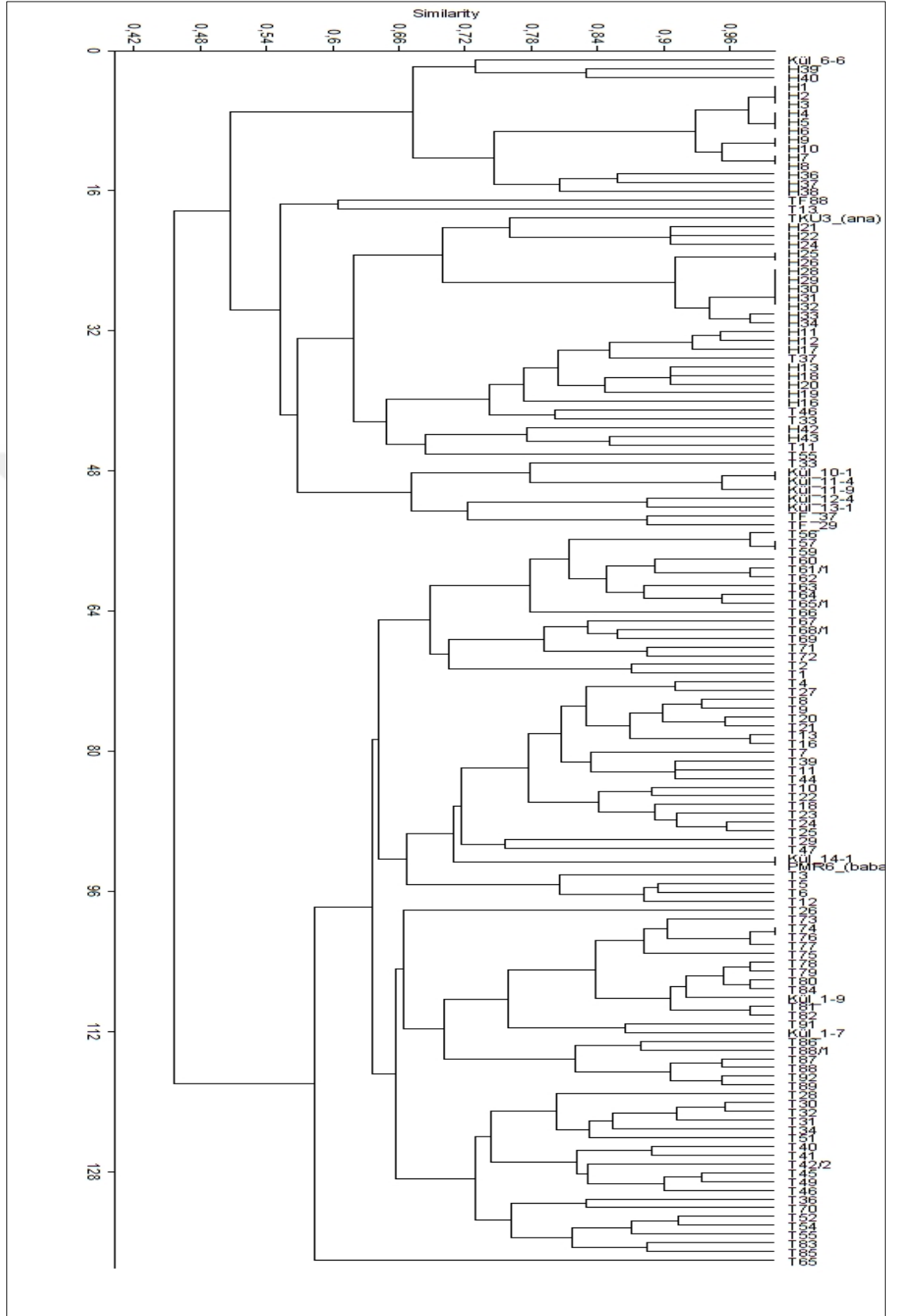


Şekil 4.9. CMCTT144-8 SSR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)

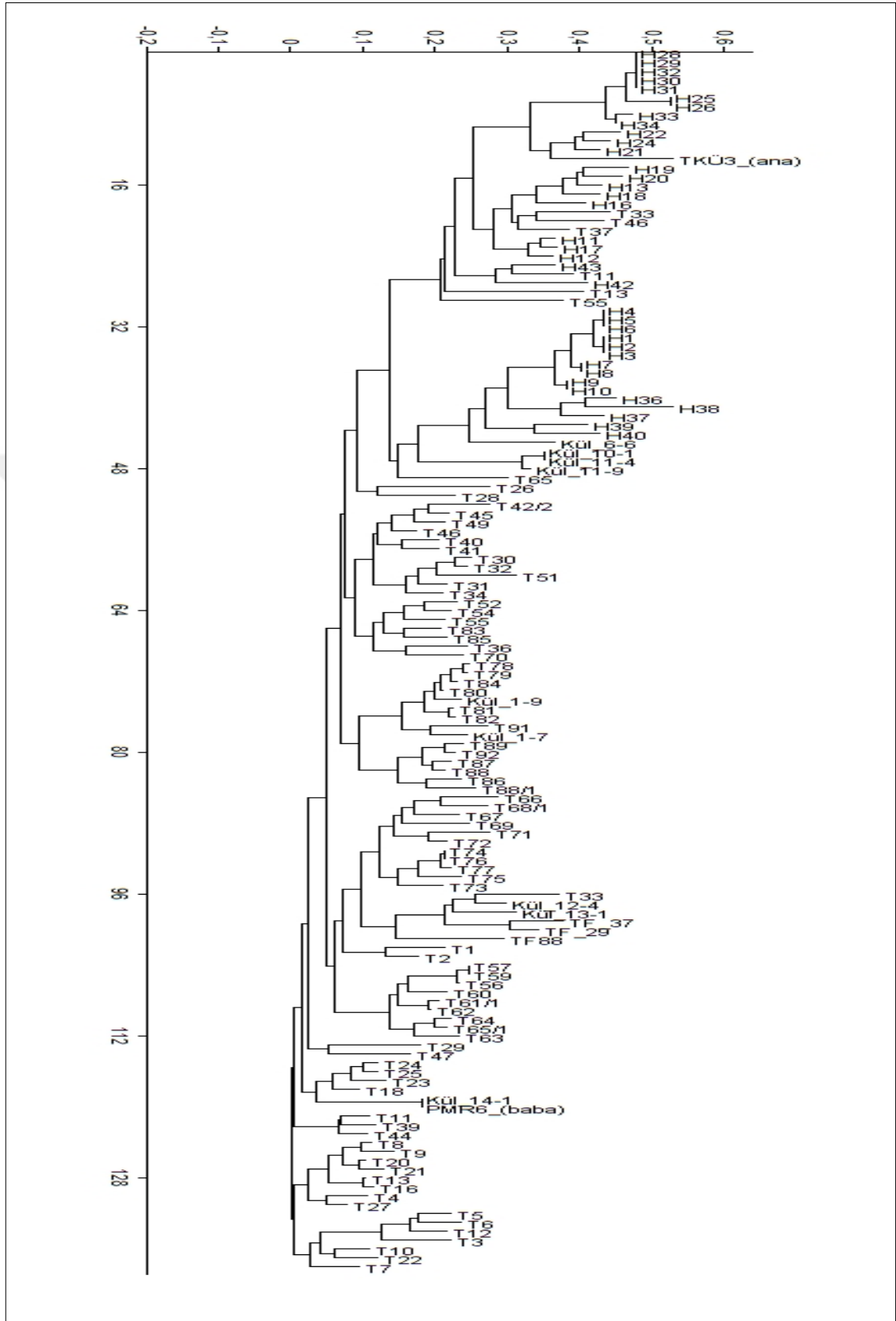
SSR analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.10'da verilmiştir. Dice (1945)'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,46 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,77 olarak bulunmuştur. Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta TKÜ3 yer alırken, ikinci grupta ise PMR6 yer almıştır. Birinci grupta en yüksek genetik benzerlik oranına 0,98 ile H1, H2, H3 ve H4, H5, H6 genotipleri sahiptir. H21, H22 ve H24 genotipleri 0,76 genetik benzerlik oranıyla TKÜ3'e en yakın genotiplerdir. İkinci grupta en yüksek genetik benzerlik oranına yine 0,98 ile, T56, T57, T59 ile T61/1, T62 ile T13, T16 ile T78, T79 ile T80, T84 ile T81, T82 ile T74, T76, T77 genotipleri sahiptir. PMR6 ile Kü1 14-1'in 0,71 genetik benzerlik oranı ile ikinci gruptaki diğer bireylere olan uzaklıkları tespit edilmiştir.

Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda PMR6, kü14-1, T18, T23, T24, T25 genotipleri aynı grupta yer almışlardır. TKÜ3 ile H28, H29, H30, H33, H24, H22, H26, H25, H21, H31, H32 ve H34 genotipleri aynı grupta yer almıştır (Şekil 4.11).

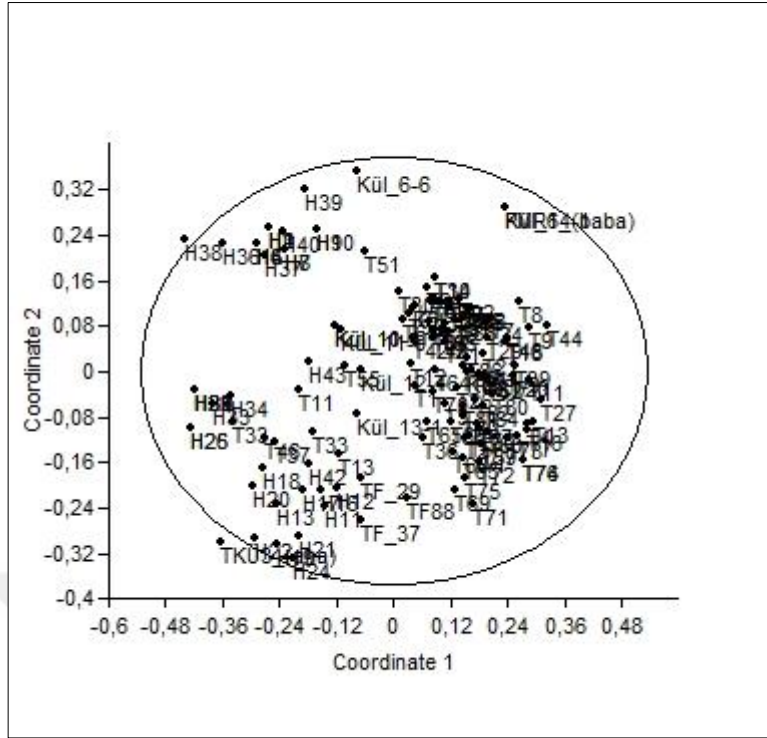
PCO sonucunda PMR6'nın ve TKÜ3'ün RIL popülasyonundaki en uzak iki genotip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.10. SSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.11. SSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.12. SSR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik

4.4. TRAP Analizleri Bulguları

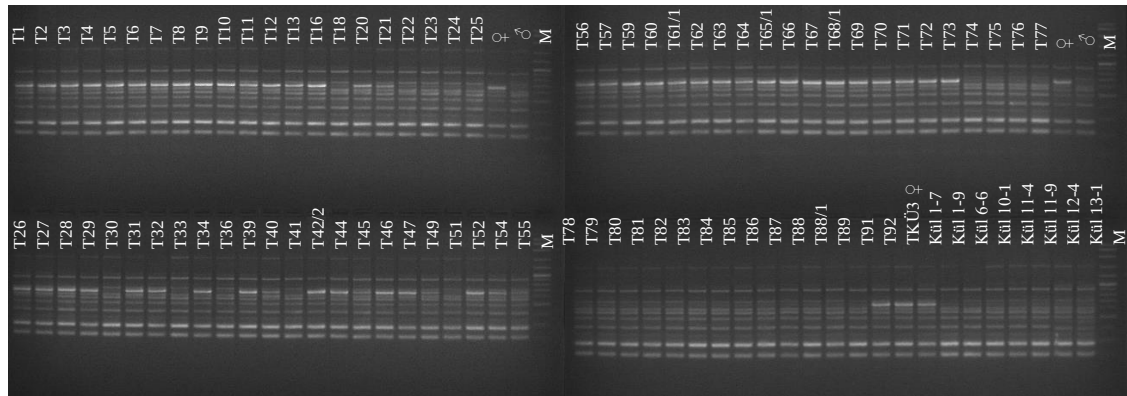
Çalışmada, TRAP tekniği ile 8 adet forward (ileri) ve 6 adet reverse (geri) primerleriyle toplam 26 farklı kombinasyon yapılarak popülasyondaki bireylerin ana-baba ebeveyn ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Yapılan kombinasyonların 5 tanesinden polimorfizm sağlanırken, 21 tanesi monomorfik bulunmuştur. Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan 5 adet TRAP kombinasyonu üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her primer için toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

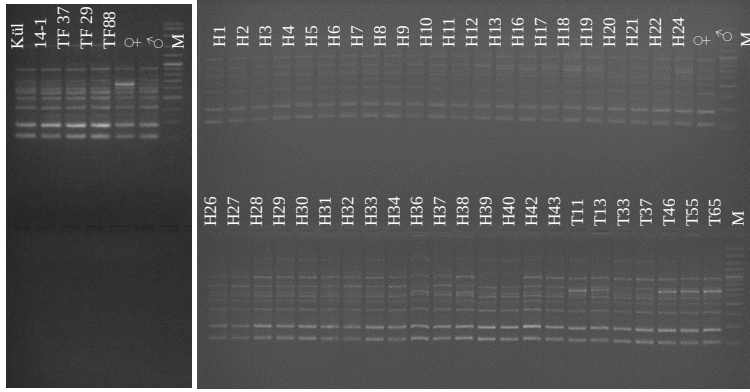
Kullanılan 5 adet TRAP kombinasyonundan büyüklükleri 100-1100 bp arasında değişen toplamda 33 adet allel elde edilmiştir. Bu allellerin 5 tanesi polimorfiktir. Primer başına düşen toplam allel sayısının 4 ile 9 (ortalama 6,6) arasında değiştiği, polimorfik allel sayısının ise 1 olduğu tespit edilmiştir. Toplam allel sayısı bakımından em3-nrta4 kombinasyonu en fazla (9 adet), em9-nrta4 kombinasyonu ise en az (4 adet) sayıda allele sahiptir. Primer kombinasyonlarının polimorfizm oranı %11-20 (ortalama 15) arasında değişim göstermiştir. em3-nrta4 kombinasyonu %11 ile en düşük, em9-nrta4 kombinasyonu ise %20 ile en yüksek polimorfizm oranına sahiptir. Primer kombinasyonlarının PIC değerleri ise 0,54 ile 0,95 (ortalama 0,76) arasında değişim göstermiştir. em3-nrta4 kombinasyonu 0,54 ile en düşük değere sahipken, em2-nbs3 kombinasyonu 0,95 ile en yüksek PIC değerine sahiptir. Çalışmada kullanılan em3-nrta4 kombinasyonunun agaroz jel görüntüleri Şekil 4.13'te verilmiştir.

TRAP markörleri, kavunda küllemeye dayanıklılık genlerinin haritalanmasında, PI 414723 x Ventrantis melezlemesinden elde ettikleri 87 bireyden oluşan F₂ popülasyonunu kullanmıştır. TRAP markörlerinden iyi oranda polimorfizm elde edilmiştir (Fazza vd. 2013). Bu çalışmada TRAP markörü ile genetik ilişkilerin araştırılmasında, PMR6 x TKÜ3 melezlemesinden elde edilen 138 bireyden oluşan F₆ popülasyonu kullanılmıştır. Ancak burada TRAP markörünün polimorfizm oranı, diğer markör sistemlerine göre daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Kullanılan TRAP primer kombinasyonlarının toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
em2-nbs3	6	1	800	17	0,95
em3-nrta4	9	1	700	11	0,54
em9-nrta4	4	1	550	25	0,73
ga5800-nbs2	7	1	100	14	0,90
em6-nbs5	7	1	1100	14	0,7
Toplam	33	5	-	-	-
Ortalama	6,6	1	-	15	0,76



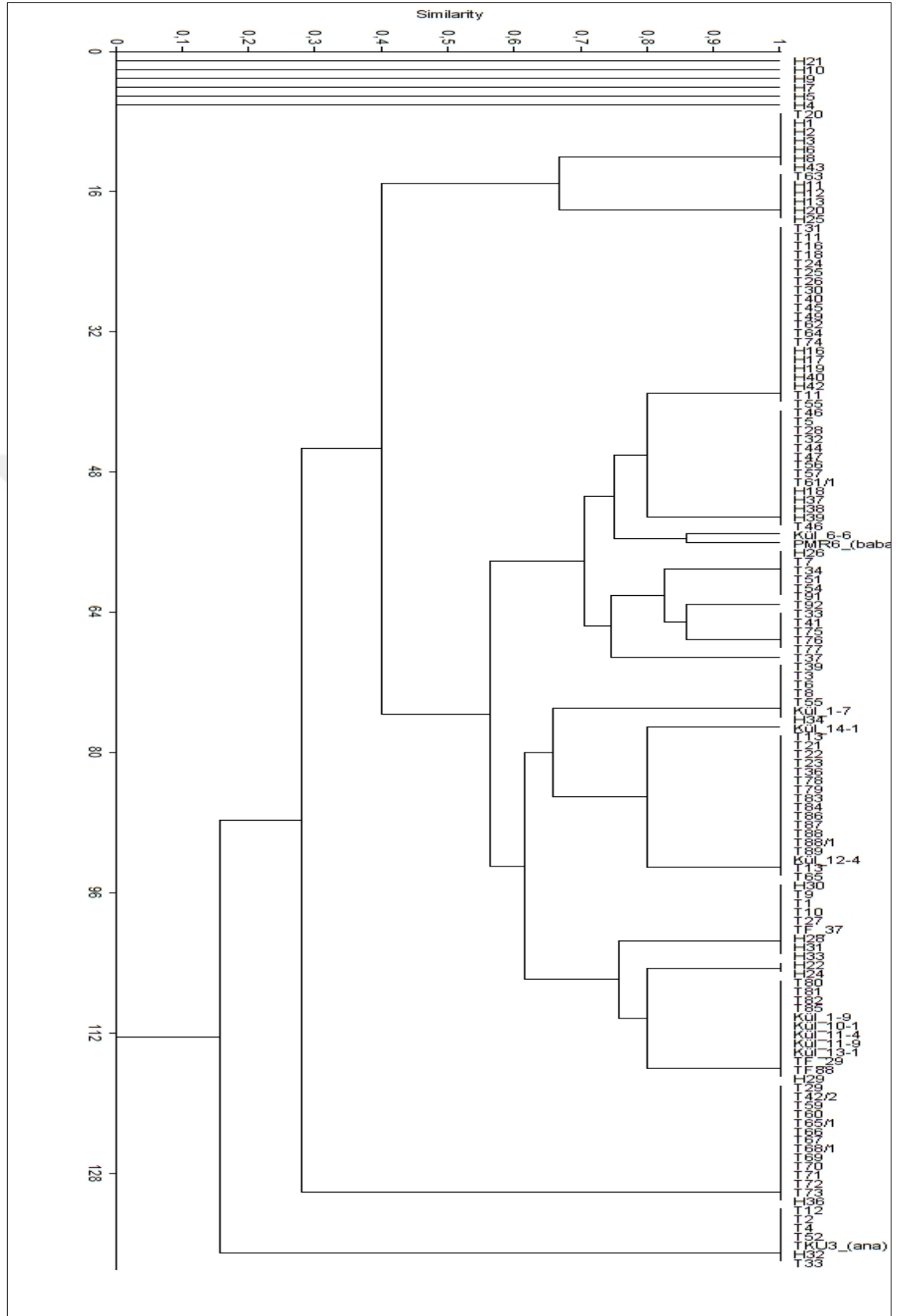


Şekil 4.13. em3-nrta4 TRAP primer kombinasyonu agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)

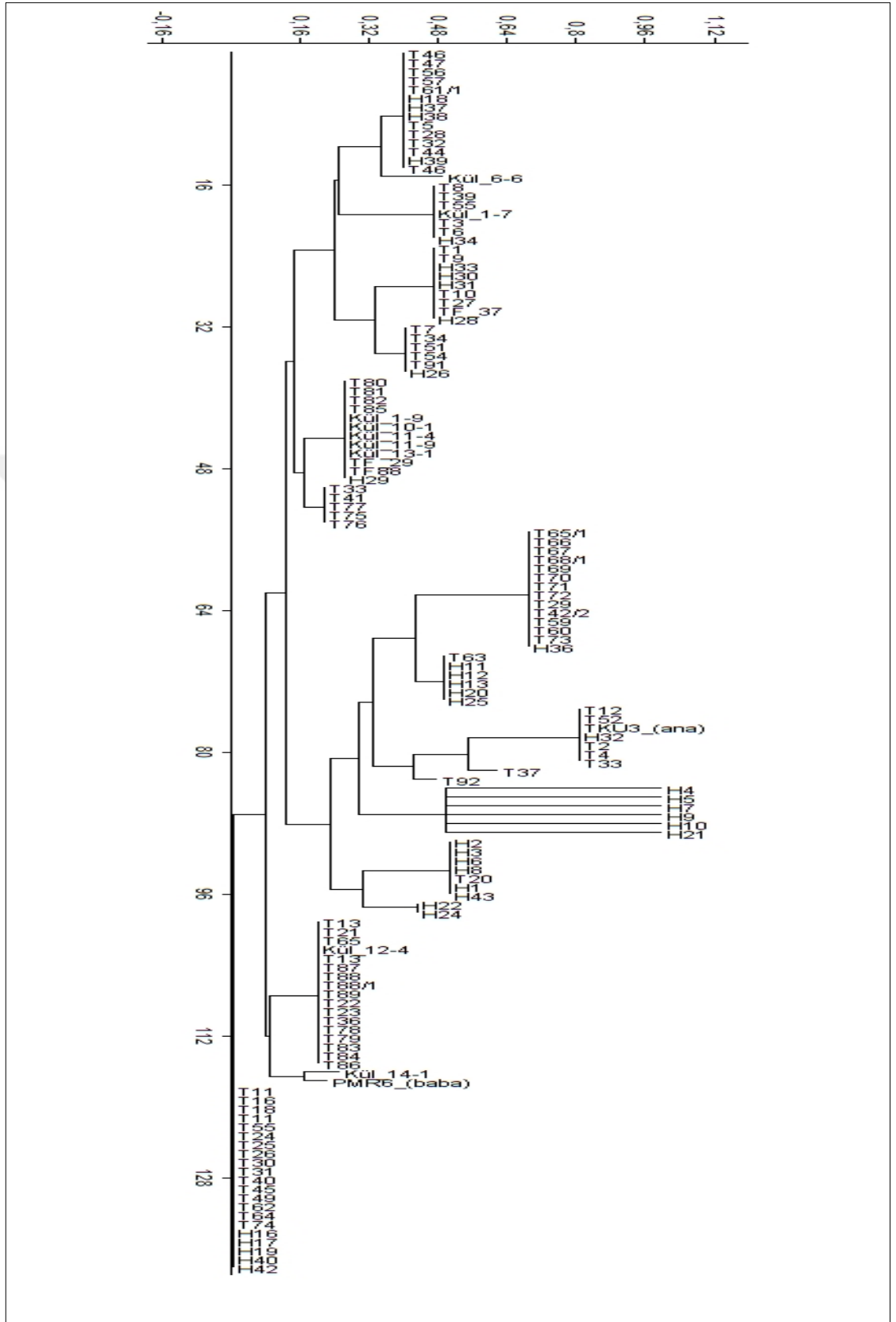
TRAP analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.14'te verilmiştir. Dice (1945)'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,79 olarak bulunmuştur. Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta PMR6 yer alırken, ikinci grupta ise TKÜ3 yer almıştır. Birinci grupta en yüksek genetik benzerlik 0,86 ile PMR6 ile Kü1 6-6 ve T92 ile T33, T41, T75, T76, T77 genotipleri arasında görülmüştür. Bu durumda PMR6'ya en yakın genotipin Kü1 6-6 olduğunu göstermiştir. İkinci grupta ise TKÜ3, T12, T2, T4, T52, T33 ve H32'nin 0,18 genetik benzerlik oranı ile popülasyondaki diğer genotiplere olan uzaklıkları tespit edilmiştir. Popülasyondaki en uzak genotiplerin H4, H5, H7 ve H9 olduğu bulunmuştur.

Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda iki farklı gruba ayrılmıştır. Bir grupta PMR6, kü14-1, T13, T21, T65, Kü1 12-4, T87, T88, T88/1, T89, T22, T23, T36, T78, T79, T83, T84 ve T86 genotipleri aynı grupta yer almışlardır. TKÜ3 ile T12, T52, H32, T2, T4, T33 genotipleri ise diğer grupta yer almıştır (Şekil 4.15)

PCO sonucunda RIL popülasyonu içerisinde TKÜ3'ün diğerlerine en uzak genotip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.14. TRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram

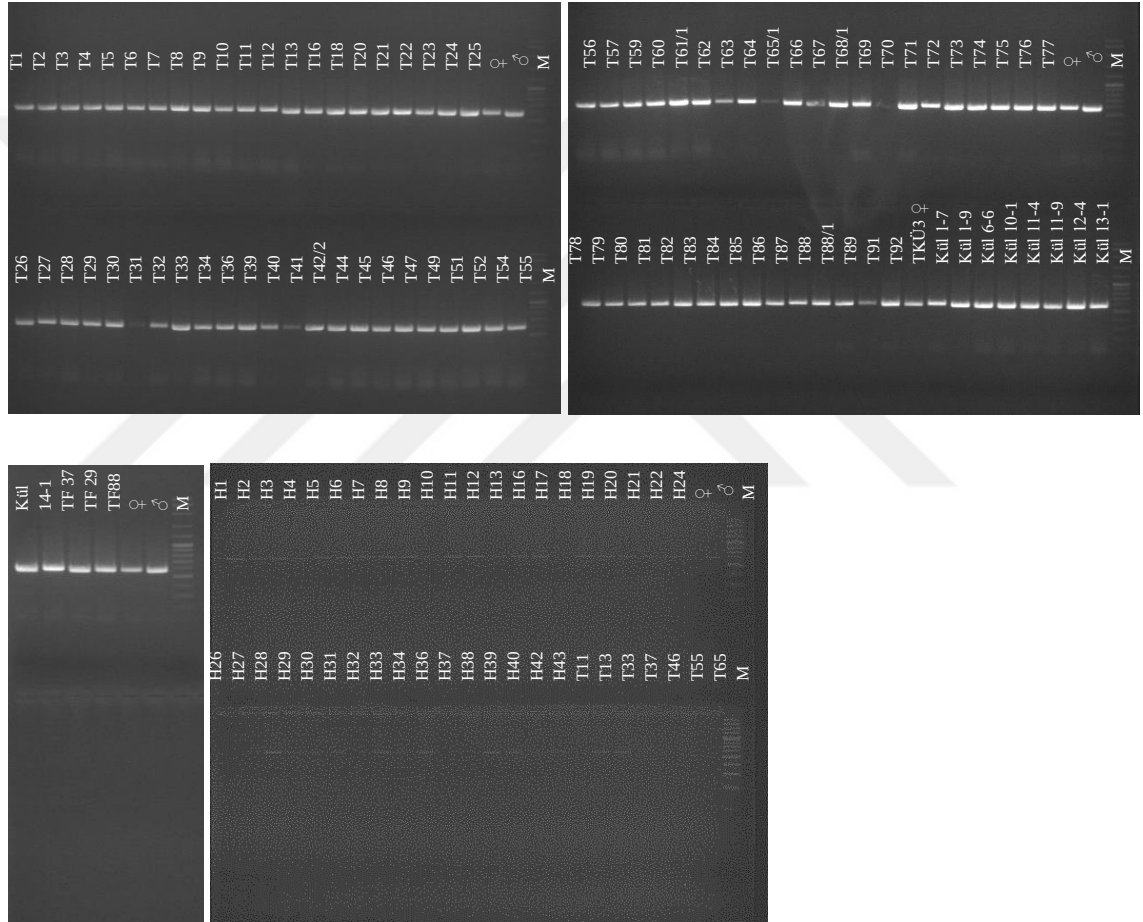


Şekil 4.15. TRAP markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram

genotip (F₆) üzerinde genetik ilişkilerini belirlemek amacıyla 1 SCAR markörü kullanılmıştır.

Çizelge 4.5. Kullanılan SCAR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değeri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
SV01574	2	2	590-600	100	0,66



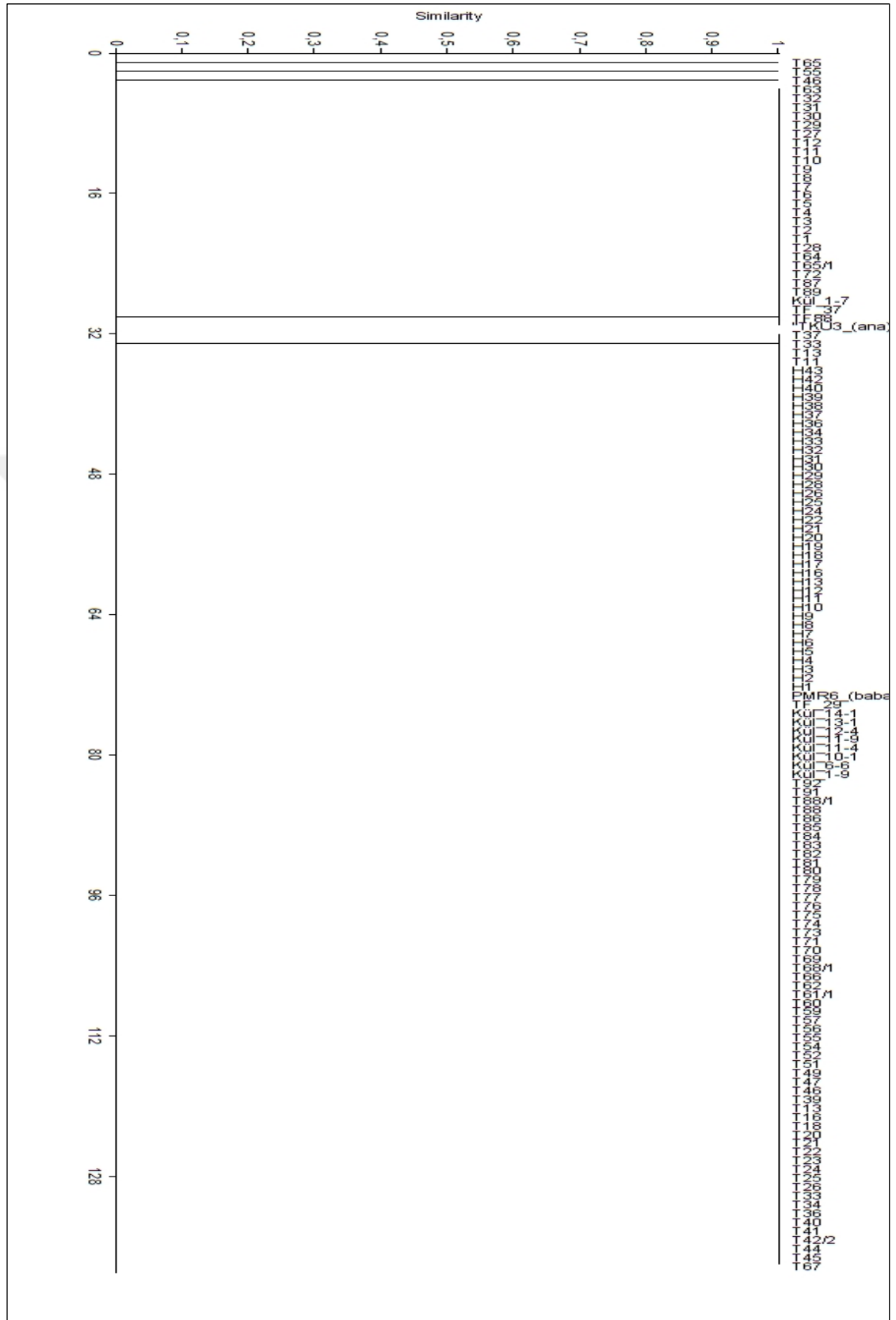
Şekil 4.17. SV01574 SCAR primerinin agaroz jel görüntüsü (♀: TKÜ3 (ana ebeveyn), ♂: PMR6 (baba ebeveyn), M: 100 bp DNA ladder)

SCAR analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.17’de verilmiştir. Dice (1945)’ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 1 olarak bulunmuştur.

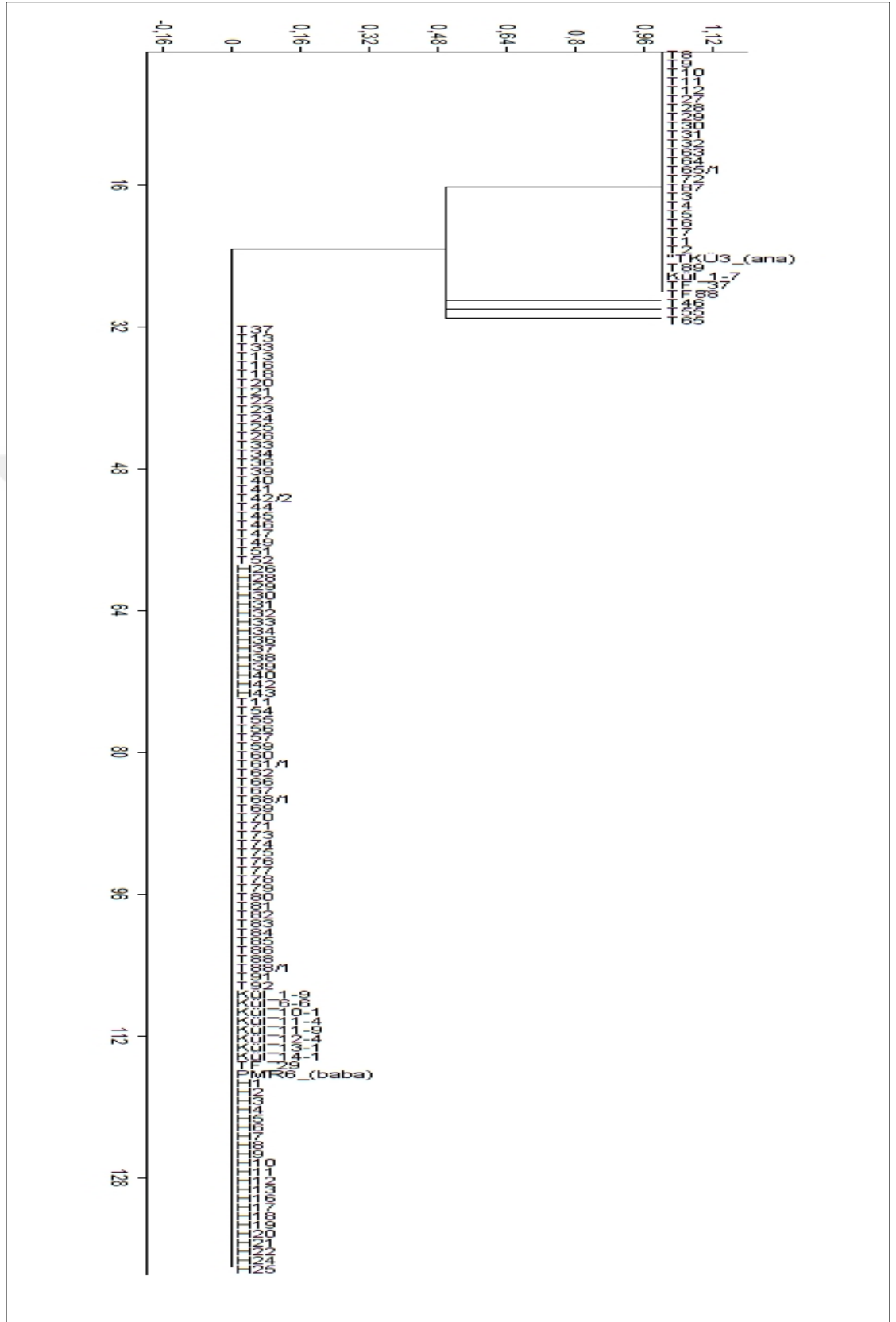
Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda PMR6 ile TKÜ3 farklı gruplarda yer almışlardır (Şekil 4.17).

PCO sonucunda RIL popülasyonu içerisinde T66'nın diğerlerine en uzak genotip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18).

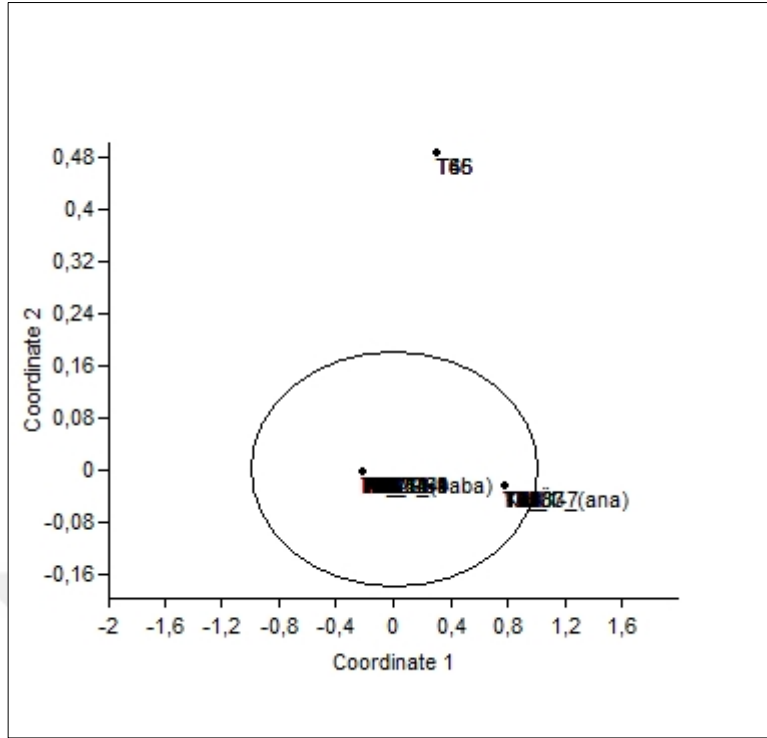




Şekil 4.18. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.19. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.20. SCAR markörü ile ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik

4.6. Tüm Markörlerin Birlikte Değerlendirilmesi

Çalışmada, RIL poulasyonunda 138 genotip üzerinde 5 farklı markör tekniği ile toplamda 304 primer kullanılmıştır. Bu primerlerin 49 adetinin polimorfik, 206 adetinin monomorfik olduğu bulunmuştur. 49 adetinden ise amplifikasyon elde edilememiştir. Polimorfik primerlerden toplamda 76 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan primerler üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her markör tekniği için ortalama toplam allel sayısı (adet), ortalama polimorfik allel sayısı (adet), ortalama polimorfizm oranları (%) ve ortalama PIC değerleri Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

ISSR tekniğinde kullanılan tüm primerlerin ortalama allel sayısı 6,67, SRAP tekniğinde 6,22, SSR tekniğinde 2, TRAP tekniğinde 6,6 ve SCAR tekniğinde ise 2’dir. Markörlerin ortalama polimorfik allel sayıları ise ISSR’in 1,17, SRAP’ın 1,22, SSR’in 2, TRAP’ın 1 ve SCAR’ın 2’dir. Ortalama polimorfizm oranları, ISSR’in %18, SRAP’ın %22, SSR’in %100, TRAP’ın %15 ve SCAR’ın %100 olarak bulunmuştur. Ortalama PIC değerleri ise ISSR’in 0,57, SRAP’ın 0,64, SSR’in 0,71, TRAP’ın 0,76 ve SCAR’ın 0,66’dir.

Primer başına düşen allel sayısına bakıldığında ISSR tekniği ile en yüksek değere (6,67) sahiptir. SSR ve SCAR teknikleri polimorfik allel sayısı ve polimorfizm oranı

bakımından en yüksek rakamlara sahiptir. PIC değerinde ise 0,76 ile TRAP tekniği en yüksek değere sahiptir.

Yıldız vd. (2011)'nin Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 63 adet kavun genotipi ile, yabancı 19 adet kavun genotipi arasındaki genetik ilişkileri araştırmak üzere yaptığı çalışmada 69 adet ISSR, 18 adet SRAP, 75 adet RAPD primeri kullanılmıştır. Ve toplam 162 polimorfik bant elde edilmiştir. Bu çalışmada ise RIL popülasyonuna ait 138 genotipin ana ebeveyn-baba ebeveyn ile olan genetik ilişkisini araştırmak için 65 SRAP, 26 TRAP, 116 SSR, 92 ISSR ve 5 adet SCAR primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerden toplam 76 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Bu çalışmada polimorfik bant sayısının diğer çalışmalara göre düşük olmasının sebebi, popülasyonun melezleme yoluyla oluşturulmuş ve F₆ seviyesine kadar getirilmiş olması olabilir.

Çizelge 4.6. Kullanılan tüm markörlerin ortalama allel sayısı (adet), ortalama polimorfik allel sayısı (adet), ortalama polimorfizm oranı (%) ve ortalama PIC değerleri

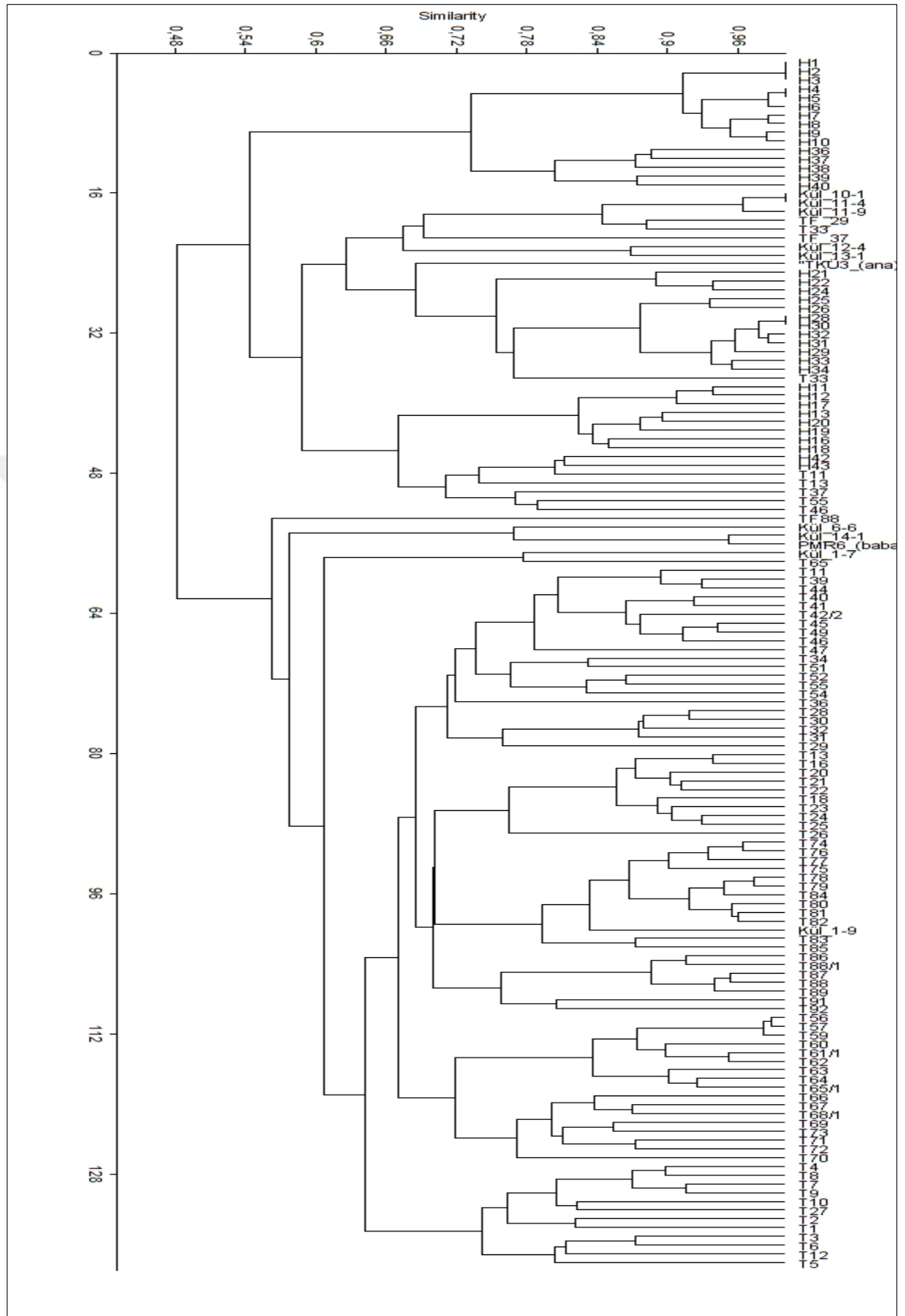
Markör adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfizm oranı (%)	PIC
ISSR	6,67	1,17	18	0,57
SRAP	6,22	1,22	22	0,64
SSR	2	2	100	0,71
TRAP	6,6	1	15	0,76
SCAR	2	2	100	0,66
Toplam	23,49	7,39	-	3,34

Tüm markör analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.19'da verilmiştir. Dice (1945)'in benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0 ile 0,99 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,82 olarak bulunmuştur. Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta TKÜ3 yer alırken, ikinci grupta ise PMR6 yer almıştır. Birinci grupta birbirine en yakın genotipler 0,98 genetik benzerlik oranı H31 ile H32, H7 ile H8 ve H4, H5 ile H6'dır. İkinci grupta ise yine aynı genetik benzerlik oranıyla T56 ile T57 genotipleridir. İkinci grupta en uzak genotip, 0,57 genetik benzerlik oranı ile TF 88'dir. PMR6'ya en yakın genotip 0,95 genetik benzerlik oranı ile Kül 14-1'dir.

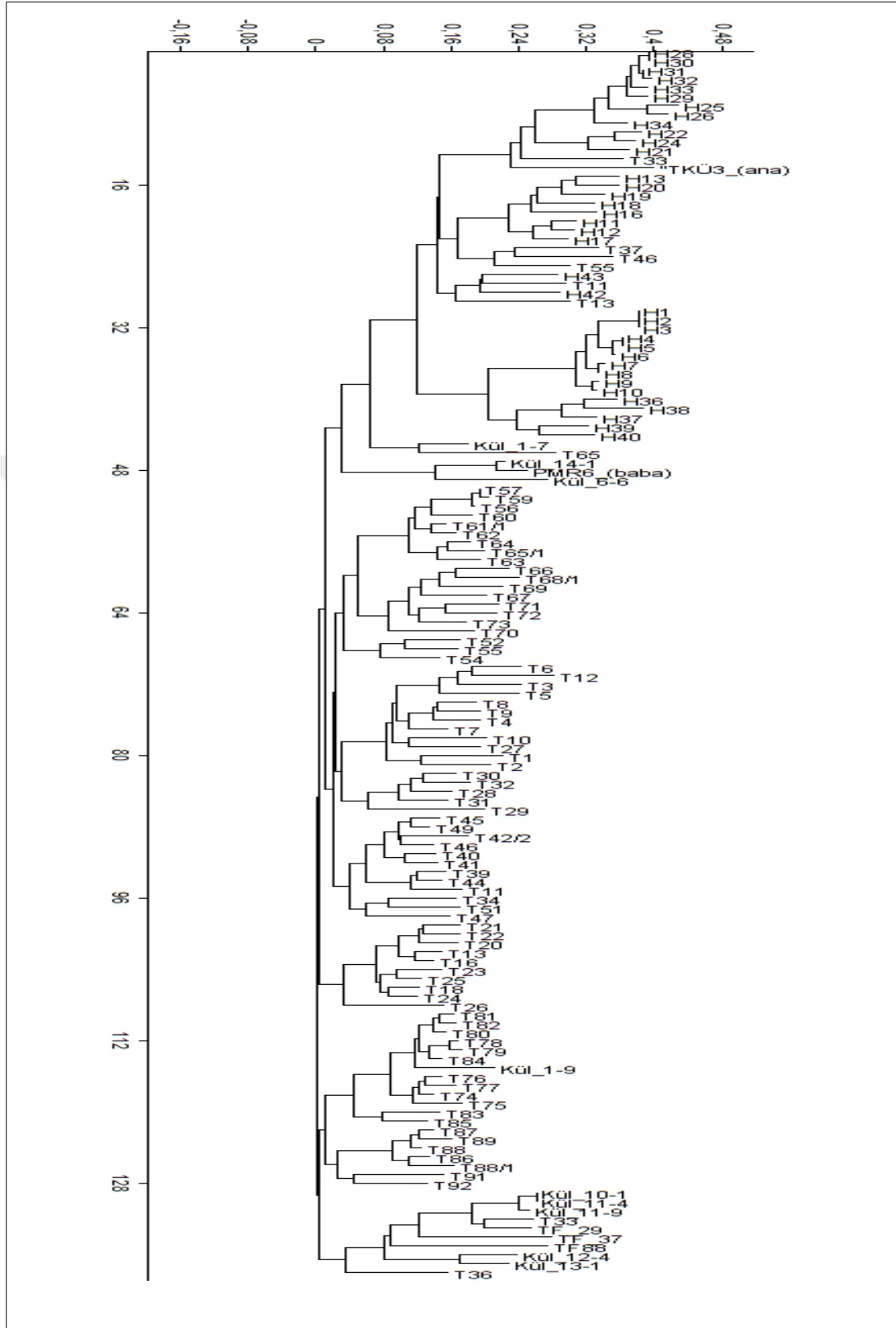
Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda TKÜ3 ile H26, H30, H31, H33, H29, H25, H26, H34, H22, H24, H21 ve T33 aynı grupta yer almıştır. PMR6 ile Kül 1-7, Kül 14-1 ve Kül 6-6 genotipleri aynı grupta yer almıştır (Şekil 4.19).

PCO sonucunda PMR6'nın ve TKÜ3'ün RIL popölasyonundaki en uç iki genotip olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.20).

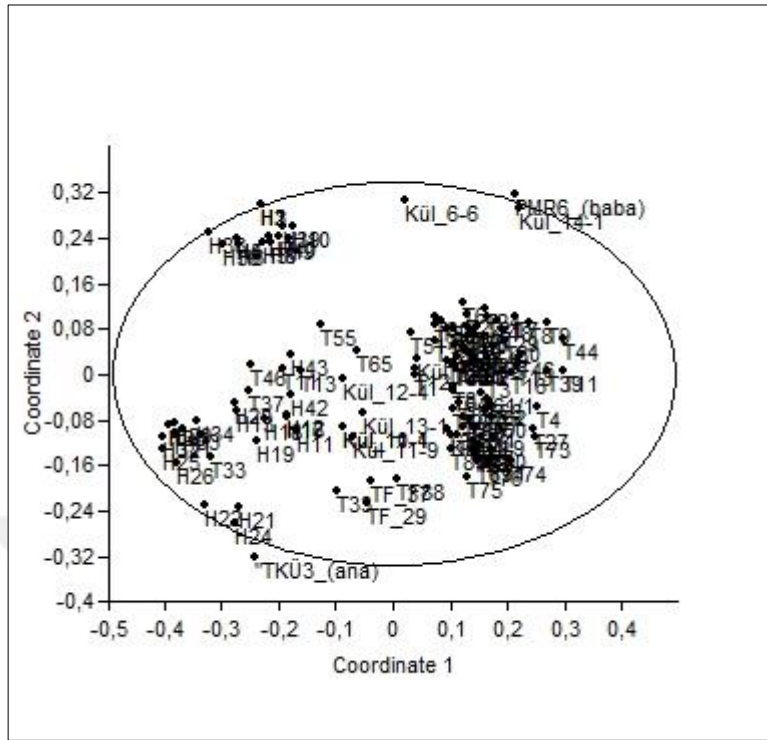




Şekil 4.21. Ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.22. Ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram



Şekil 4.23. Ana-baba ebeveyn ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren PCO sonucu oluşan grafik

5. SONUÇ

Küllemeye dayanıklılık amacıyla oluşturulan RIL popülasyona ait 138 genotip üzerinde, ana-baba ebeveyn ile bireyler arasındaki genetik ilişkiyi araştırmak amacıyla 92 ISSR, 65 SRAP, 116 SSR, 26 TRAP ve 5 SCAR markörü kullanılmıştır.

92 ISSR primerinden 12 tanesi polimorfik, 53 tanesi monomorfik bulunmuş ve 27 tanesinden ise amplifikasyon elde edilememiştir. 12 tane polimorfik primerden toplam 80 allel elde edilmiş ve bunun 14 tanesi polimorfik bulunmuştur. ISSR tekniğinde primer başına düşen toplam ortalama allel sayısı 6,67, ortalama polimorfik allel sayısı ise 1,17'dir. Primerlerin ortalama polimorfizm oranı %18 bulunurken, PIC değeri ise 0,57 bulunmuştur.

SRAP tekniğinde toplam toplam 65 farklı kombinasyonla çalışılmış, 9 tanesi polimorfik, 43 tanesi monomorfik bulunmuş ve 13 tanesinden amplifikasyon elde edilememiştir. Polimorfik bulunan 9 SRAP kombinasyonundan toplam 56 allel elde edilmiş ve bunun 11 tanesi polimorfik bulunmuştur. Primer başına düşen ortalama allel sayısı 6,22, ortalama polimorfik allel sayısı ise 1,22'dir. Primerlerin polimorfizm oranı %22, PIC değeri 0,64 bulunmuştur.

116 SSR primerinden 22 tanesi polimorfik, 86 tanesi monomorfik bulunurken, 8 tanesinden amplifikasyon sağlanamamıştır. 22 polimorfik SSR primerinden, toplam 44 allel elde edildiği ve bu allelerin tamamının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. SSR tekniğinde, primer başına düşen ortalama allel sayısı ve ortalama polimorfik allel sayısı 2 olarak bulunmuştur. SSR markörünün polimorfizm oranı %100 ve PIC değeri 0,71'dir.

TRAP tekniğinde kullanılan 26 primer kombinasyonundan 5 tanesi polimorfik, geri kalan 21 tanesi monomorfik bulunmuştur. Polimorfik bulunan primer kombinasyonlarından toplam 33 allel elde edilmiş ve bunun 5 tanesi polimorfiktir. Primer başına düşen ortalama allel sayısı 6,6, ortalama polimorfik allel sayısı ise 1'dir. Polimorfizm oranı %15 bulunurken, PIC değeri 0,76 olarak bulunmuştur.

SCAR tekniğinde toplam 5 primer kullanılmış, 1 tanesi polimorfik, 3 tanesi monomorfik bulunmuş ve 1 tanesinden amplifikasyon sağlanamamıştır. Polimorfik bulunan 1 tane primerden, 2 tane allel elde edilmiş ve ikiside polimorfik bulunmuştur. Polimorfizm oranı %100, PIC değeri ise 0,66'dır.

Markör sistemlerinde, primer başına düşen ortalama allel sayısına bakıldığında ISSR en yüksek değere (6,67) sahiptir. Ortalama Polimorfik allel sayısı (2) ve polimorfizm oranı (%100) bakımından ise SSR ve SCAR markörleri en yüksek değere sahiptir. PIC değerinde ise, TRAP markörünün 0,76 ile en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir.

ISSR analizlerinde benzerlik oranları 0,48 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,78 olarak bulunmuştur. SRAP analizlerinde, benzerlik oranları 0,41 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,71 olarak bulunmuştur. SSR analizlerinde, benzerlik oranları 0,46 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,77 olarak bulunmuştur. TRAP analizlerinde, benzerlik oranları 0 ile 1 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,79 olarak bulunmuştur. SCAR analizlerinde ise, benzerlik oranları 0 ile 1 arasında değişim göstermiş ve matrix korelasyonu (r) 1 olarak bulunmuştur. SSR markör sisteminde oluşturulmuş dendrogramda, popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta TKÜ3, ikinci grupta ise PMR6 yer almıştır. TRAP ve SRAP markörlerinde de dendrogram iki farklı gruba ayrılmıştır. Ancak SSR markörü bireyleri daha net bir şekilde ayırmıştır. ISSR ve SCAR markörleri ise TKÜ3 ve PMR6'yı birbirinden ayıramamıştır.

Tüm markörler birlikte değerlendirildiğinde, benzerlik oranları 0 ile 0,99 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,82 olarak bulunmuştur. Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta hassas genotipler yer almış, birbirine en yakın genotipler 0,98 genetik benzerlik oranı H31 ile H32, H7, H8 ile H4, H5 ile H6 bulunmuştur. İkinci grupta ise dayanıklı genotipler yer almış, 0,98 genetik benzerlik oranıyla T56 ile T57 genotipleri birbirine en yakın bulunmuştur. PMR6'ya en yakın genotipin 0,95 genetik benzerlik oranı ile Kül 14-1 olduğu tespit edilmiştir. İkinci grupta en uzak genotip, 0,57 genetik benzerlik oranı ile TF 88'dir.

Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogramda, külemeye hassas TKÜ3 ile H26, H30, H31, H32, H33, H29, H25, H26, H34, H22, H24, H21 ve T33 genotipleri aynı grupta yer almıştır. Külemeye dayanıklı PMR6 genotipi ile Kül 1-7, Kül 14-1 ve Kül 6-6 genotipleri aynı grupta yer almıştır. PCO sonucunda PMR6'nın ve TKÜ3'ün RIL popülasyonundaki en uç iki genotip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analizlerin birbirini desteklediği görülmektedir.

Araştırma sonuçlarında, SSR haricindeki markör sistemlerini tek başına değerlendirmenin külemeye hassas ve dayanıklı bireylerin tespit edilmesinde yeterli olmadığı görülmüştür. Kullanılan tüm markör sistemlerini birlikte değerlendirmek daha net sonuçlara ulaşmamızı sağlamıştır. Kodominant ve dominant markörleri birlikte kullanmanın genomu daha ayrıntılı taramak açısından önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarında, kodominant ve dominant markör sistemlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Bu çalışmanın, gelecekte ülkemizde yapılacak olan küleme hastalığına dayanıklı yerli çeşit geliştirme çalışmalarına hız kazandıracağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim 1: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 [Son erişim tarihi: 25.04.2018].
- Anonim 2: <http://www.fao.org/home/en/> [Son erişim tarihi: 31.05.2018].
- Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology, 3rd edition. Academic Press, ABD, 845p.
- Akgül, N. 2012. SSR ve ISSR moleküler belirteçlerinin bazı Doğu ve Güneydoğu Anadolu kavun genotipleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde fenolojik belirteçler ile birlikte kullanımı. Yüksek lisans tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 68s.
- Bardin, M., Dogimont, C., Nicot, P. and Pitrat, M. 1999. Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum* studied in recombinant inbred lines. In: Abak, K. and Büyükalaca, S. (Eds.), I International Symposium on Cucurbits. ISHS Acta Horticulturae 492, pp. 163-168.
- Beraldo-Hoischen, P., Gómez-Guillamón, M. L. and López-Sesé, A. I. 2012. QTL associated with one recessive gene for powdery mildew resistance in the melon genotype TGR-1551. In: Sari, N., Solmaz, I. and Aras, V. (Eds.), Cucurbitaceae 2012: Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics. CAB Direct, pp. 508-513.
- Bilgin, O. and Korkut, K.Z. 2005. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(3): 245-252.
- Bornet, B. and Branchard, M. 2001. Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3): 209–215.
- Burr, B. and Burr, F.A. 1991. Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: theoretical and practical considerations. *Trends in Genetics*, 7(2): 55-60.
- Cohen, R. 1993. A leaf disk assay for detection of resistance of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race 1. *Plant Disease*, 77: 513–517.
- Cohen, R., Burger, Y. and Katzir, N. 2004. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: Factors affecting race identification and the importance for research and commerce. *Phytoparasitica*, 32(2): 174–183.
- Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Reis, N. And Katzir, N. 1998. Application of inter-SSR markers in melon (*Cucumis melo* L.). *Cucurbit Genet Coop Rep*, 21: 25-28.

- Danin-Poleg, Y., Reis, N., Tzuri, G. and Katzir, N. 2001. Development and characterization of microsatellite markers in Cucumis. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(1): 61-72.
- Danin-Poleg, Y., Tadmor, Y., Tzuri, G., Reis, N., Hirschberg, J. and Katzir, N. 2002. Construction of a genetic map of melon with molecular markers and horticultural traits, and localization of genes associated with ZYMV resistance. *Euphytica*, 125(3): 373-384.
- Daryono, B. S., Aristya, G. R. and Kasiamdari, R. S. 2011. Development of Random Amplified Polymorphism DNA Markers Linked to Powdery Mildew Resistance Gene in Melon. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 16(2): 76-82.
- Dhillon, N. P. S., Ranjana, R., Singh, K., Eduardo, I., Monforte, A. J., Pitrat, M., Dhillon, N. K. and Singh, P. P. 2007. Diversity among landraces of Indian snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(6): 1267-1283.
- Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26(3): 297-302.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Epinat, C., Pitrat, M. and Bertrand, F. 1993. Genetic analysis of resistance of five melon lines to powdery mildews. *Euphytica*, 65(2): 135-144.
- Fazza, A. C., Dallagnol, L. J., Fazza, A. C., Monteiro, C. C., Lima, B. M. D., Wassano, D. T. and Camargo, L. E. A. 2013. Mapping of resistance genes to races 1, 3 and 5 of *Podosphaera xanthii* in melon PI 414723. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13(4): 349-355.
- Fabriki, O. S., Shamsbakhsh, M., Jalali, J. M. and Ahmadi, J. 2009. Analysis of genetic diversity of Iranian melons (*Cucumis melo* L.) using ISSR markers. *Iranian Journal of Biology*, 22(2): 271-281.
- Ferriol, M., Pico, B. and Nuez, F. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(2): 271-282.
- Fernandez-Silva, I., Eduardo, I., Blanca, J., Esteras, C., Pico, B., Nuez, F., Arús, P., Garcia-Mas, J. and Monforte, A. J. 2008. Bin mapping of genomic and EST-derived SSRs in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 118(1): 139-150.
- Fuzhong, L. W. S. M. L. and Huaisong, W. 2002. Assessment of Genetic Diversity of Melon (*Cucumis melo*) Germplasm Based on RAPD and ISSR [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 3:007.

- Fukino, N., Yoshioka, Y., Sakata, Y. and Matsumoto, S. 2010. Construction of an inter varietal genetic map of cucumber and its comparison with the melon genetic map. *Cucurbitaceae 2010 Proc*, 22-25.
- Fukino, N., Ohara, T., Monforte, A., Sugiyama, M., Sakata, Y., Kuniyama, M. and Matsumoto, S. 2008. Identification of QTLs for resistance to powdery mildew and SSR markers diagnostic for powdery mildew resistance genes in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 118(1): 165-175.
- Garcia, E., Jamilena, M., Alvarez, J. I., Arnedo, T., Oliver, J. L. and Lozano, R. 1998. Genetic relationships among melon breeding lines revealed by RAPD markers and agronomic traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(6-7): 878-885.
- Garcia-Mas, J., Monforte, A. J. and Arus, P. 2004. Phylogenetic relationships among *Cucumis* species based on the ribosomal internal transcribed spacer sequence and microsatellite markers. *Plant Systematics and Evolution*, 248(1-4): 191-203.
- Gonzalo, M.J., Oliver, M., Garcia-Mas, J., Monfort, A., Dolcet-Sanjuan, R., Katzir, N., Arus, P. and Monforte, A.J. 2005. Simple-sequence repeat markers used in merging linkage maps of melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110(5): 802–811.
- Günay, A. 1993. Özel Sebze Yetiştiriciliği Cilt V. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, 117s.
- Gülşen, O. and Mutlu, N. 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markörler ve Kullanım Alanları. *Alatarım*, 4 (2): 27-37.
- Güleç, T. E., Yıldırım, A. and Sönmezoğlu, Ö. A. 2010. Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2): 67-79.
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J. and Owen, J.L. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and applied genetics*, 89(7-8): 998-1006.
- Henane, I., Slimane, R. B. and Jebari, H. 2015. SSR-based genetic diversity analysis of Tunisian varieties of melon (*Cucumis melo* L.) and Fakous (*Cucumis melo* var. *flexuosus*). *International Journal of Advanced Research*, 3(3): 727-734.
- Hu, J. and Vick, B.A. 2003. TRAP (target region amplification polymorphism), a novel marker technique for plant genotyping. *Plant Molecular Biology Reporter*, 21(3): 289–294.
- Hu, J., Ochoa, O.E., Truco, M.J. and Vick, B.A. 2005. Application of the TRAP technique to lettuce (*Lactuca sativa* L.) genotyping. *Euphytica*, 144(3): 225–235.
- Hosoya, K., Narisawa, K., Pitrat, M. and Ezura, H. 1999. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. *Plant Breeding*, 118(3): 259–262.

- Jeffrey, C. 1980. A review of the Cucurbitaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 81(3): 233–247.
- Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Tzuri, G., Karchi, A., Lavi, U. and Cregan, P.B. 1996. Length polymorphisms and homologies of microsatellites in several Cucurbitaceae species. *Theoretical and Applied Genetics*, 93(8): 1282–1290.
- Kandemir, N., Yıldırım, A., Kudrna, D. A., Hayes, P. M. and Kleinhofs, A. 2004. Marker assisted genetic analysis of non-brittle rachis trait in barley. *Hereditas*, 141(3): 272-277.
- Kaçar, Y. A., Simsek, O., Solmaz, I., Sari, N. and Mendi, Y. Y. 2012. Genetic diversity among melon accessions (*Cucumis melo*) from Turkey based on SSR markers. *Genet Mol Res*, 11(4): 4622-4631.
- Konieczny, A. and 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.
- Křístková, C., Leveda, A. and Sedláková, B. 2004. Virulence of Czech cucurbit powdery mildew isolates on *Cucumis melo* genotypes MR-1 and PI 124112. *Scientia Horticulturae*, 99(3-4): 257–265.
- Lander, E. S. and Botstein, D. 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121(1): 185-199.
- Levi, A., Thomas, C. E., Simmons, A. M. and Thies, J. A. 2005. Analysis based on RAPD and ISSR markers reveals closer similarities among *Citrullus* and *Cucumis* species than with *Praecitrullus fistulosus* (Stocks) Pangalo. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(4): 465–472.
- Li, G. and 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.
- Liu, L., Chen, Y., Su, Z., Zhang, H. and Zhu, W. 2010. A sequence-amplified characterized region marker for a single, dominant gene in melon PI 134198 that confers resistance to a unique race of *Podosphaera xanthii* in China. *HortScience*, 45(9): 1407-1410.
- López-Sesé, A. I., Staub, J., Katzir, N. and Gómez-Guillamón, M. L. 2002. Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers to assess strategies for large collection evaluation. *Euphytica*, 127(1): 41-51.
- Malik, A. A., Cui, L., Zhang, S. and Chen, J. F. 2011. Efficiency of SSR markers for determining the origin of melon plantlets derived through unfertilized ovary culture. *Hortic. Sci. (Prague)*, 38(1): 27-34.

- McCreight, J.D., Pitrat, M., Thomas, C.E., Kishaba, A.N. and Bohn, G.W. 1987. Powdery mildew resistance genes in muskmelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(1): 156-160.
- Monforte, A.J., Garcia-Mas, J. and Arús, P. 2003. Genetic variability in melon based on microsatellite variation. *Plant Breeding*, 122(2): 153–157.
- Nakata, E., Staub, J. E., López-Sesé, A. I. And Katzir, N. 2005. Genetic diversity of Japanese melon cultivars (*Cucumis melo* L.) as assessed by random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(4): 405-419.
- Paterson, A. H., Lander, E. S., Hewitt J. D., Peterson, S., Lincoln S. E. and Tanksley, S.D. 1988. Resolution of quantitative traits into mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 335(6192): 721-726.
- Paran, I. and 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.
- Paterson, A. H., Lan, T. H., Reischmann, K. P., Chang, C., Lin, Y. R., Liu, S. C., Burow, M. D., Kowalski, S. P., Katsar, C. S., DelMonte, T. A., Feldmann, K. A., Schertz, K. F. and Wendel, J. F. 1996. Toward a unified genetic map of higher plants, transcending the monocot-dicot divergence. *Nature Genetics*, 14: 380–382.
- Parvathaneni, R. K., Natesan, S., Devaraj, A. A., Muthuraja, R., Venkatachalam, R., Subramani, A. P. and Laxmanan, P. 2011. Fingerprinting in cucumber and melon (*Cucumis* spp.) genotypes using morphological and ISSR markers. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14(1): 39-43.
- Périn, C., Hagen, L., De Conto, V., Katzir, N., Danin-Poleg, Y., Portnoy, V., Baudracco-Arnas, S., Chadoeuf, J., Dogimont, C. and Pitrat, M. 2002. A reference map for *Cucumis melo* based on two recombinant inbred line populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(6-7): 1017–1034.
- Perchepied, L., Bardin, M., Dogimont, C. and Pitrat, M. 2005. Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. *Phytopathology*, 95(5): 556–565.
- Pérez- García, A., Romero, D., Fernández-Ortuño, D., López-Ruiz, F., De Vicente, A. and Torés, J.A. 2009. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. *Molecular plant pathology*, 10(2): 153–160.
- Pitrat, M. 1991. Linkage groups in *Cucumis melo* L. *Journal of Heredity*, 82(5): 406–411.

- Pitrat, M., Chauvet, M. and Foury, C. 1999. Diversity, history and production of cultivated cucurbits. In: Abak, K. and Büyükalaca, S. (Eds.), I International Symposium on Cucurbits. ISHS Acta Horticulturae 492, pp. 21-28.
- Pitrat, M., Halnelt, P. and Hammer, K. 2000. Some comments on intraspecific classification of cultivars of melon. In: Katzir, N. and Paris, H.S. (Eds.), VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. ISHS Acta Horticulturae 510, pp. 29-36.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3): 225-38.
- Robinson, R. W. and Decker-Walters, D.S. 1997. Cucurbits / R.W. Robinson and D.S. Decker-Walters. CAB International, New York, 226p.
- Sarı, N., Tan, A., Yanmaz, R., Yetisir, H., Balkaya, A., Solmaz, I., Aykas, L. 2008. General status of cucurbit genetic resources in Turkey. In: Pitrat, M. (ed.), Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. Home DSpace INRA Avignon, pp. 21-32.
- Sarıkamış, G. 2014. Sebze Islahında Moleküler Yaklaşımlar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2): 80-83.
- Schultheis, J.R., Jester, W.R. and Augostini, N.J. 2002. Screening melons for adaptability in North Carolina. *Trends in New Crops and New Uses*, 439-444
- Sestili, S., Daniele A., Rosa, A., Ferrari, V., Belisario, A. and Ficcadenti, N. 2008. Molecular characterization of different Italian inodorus melon populations based on ISSR molecular markers and preliminary SSR analysis. In: Pitrat, M. (ed.), Cucurbitaceae 2008: Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. Home DSpace INRA Avignon, pp. 307-311.
- Smith, J. S. C., Chin, E. C. L., Shu, H., Smith, O. S., Wall, S. J., Senior, M. L., Mitchell, S. E., Kresovich, S. and Ziegler, J. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(1-2): 163-173.
- Sowell, G. Jr. 1982. Population shift of *Sphaerotheca fuliginea* from race 2 to race 1 in southeastern United States. *Plant Diseases*, 66: 130-131.
- Solmaz, I., Kacar, Y. A., Simsek, O. and Sari, N. 2016. Genetic characterization of turkish snake melon (*Cucumis melo* L. subsp. *melo flexuosus* Group) accessions revealed by SSR markers. *Biochemical genetics*, 54(4): 534-543.
- Solmaz, I., Kaçar, Y., Sari, N. ve Şimşek, Ö. 2016. Genetic diversity within Turkish watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsumura & Nakai] accessions revealed by SSR and SRAP markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(3): 407-419.

- Stepansky, A., Kovalski, I. and Perl-Treves, R. 1999. Intraspecific classification of melons (*Cucumis melo* L.) in view of their phenotypic and molecular variation. *Plant Systematics and Evolution*, 217(3-4): 313–332.
- Staub, J.E., Danin-poleg, Y., Fazio, G., Horejsi, T., Reis, N. and Katzir, N. 2000. Comparative analysis of cultivated melon groups (*Cucumis melo* L.) using random amplified polymorphic DNA and simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 115(3): 225–241.
- Şensoy, S., 2005. Türkiye’deki kavun genotiplerinde mevcut genetik varyasyonun ve önemli bazı fungal kökenli hastalıklara dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yollarla araştırılması. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Taylor, B.A. 1978. Recombinant inbred strains: use in gene mapping. *Origin of inbred mice*, 423–438p.
- Tanksley, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(1): 3–8.
- Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H. and Bonierbale, M.W. 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tool for an Old Science. *Nature Biotechnology*, 7(3): 257-264.
- Tzitzikas, E. N., Monforte, A. J., Fatihi, A., Kypriotakis, Z., Iacovides, T. A., Ioannides, M. and Kalaitzis, P. 2009. Genetic diversity and population structure of traditional Greek and Cypriot melon cultigens (*Cucumis melo* L.) based on simple sequence repeat variability. *HortScience*, 44(7): 1820-1824.
- Unlu, M. and Unlu, A. 2012. A new developed test method against to the melon powdery mildew (*Podosphaera xanthii*) in in vivo conditions. In: Sarı, N. (Ed.), *Cucurbitaceae 2012: Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*. CABI, pp. 401-405.
- Ünlü, M., Ünlü, A., and Boyacı, H. F. 2010. Batı Akdeniz Bölgesi örtüaltı kavun yetiştiriciliği yapılan alanlarda yayılış gösteren külleme hastalığı etmeninin belirlenmesi. *Sebze Tarımı Sempozyumu*, ss.86, 23-26 Haziran, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Yalçın-Mendi, Y., Sarı, N., Solmaz, İ., Ünek, C., Eldoğan, S., İpek, M. and Serçe, S. 2007. Transgenik Kırkağaç 637 Kavun Çeşidinde Morfolojik Karakterizasyon. *Alatarım*, 6 (1): 26-31.
- Yeboah, M. A., Xuehao, C., Feng, C. R., Liang, G. and Gu, M. 2007. A genetic linkage map of cucumber (*Cucumis sativus* L.) combining SRAP and ISSR markers. *African Journal of Biotechnology*, 6(24).
- Yıldız, M. 2010. Havuçlarda antosiyanin sentezlenmesini etkileyen genlerin biyosentezi ile mor ve sarı renkleri veren P1 ve Y2 genlerinin haritalanması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 226s.

- Yildiz, M., Ekbic, E., Keles, D., Sensoy, S. and Abak, K. 2011. Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia horticulturae*, 130(1): 349-353.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. and Tanur Erkoyuncu, M. 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4 (2): 1-12.
- Yuan, X. J., Li, X. Z., Pan, J. S., Wang, G., Jiang, S., Li, X. H., Deng, S.L., He, H.L., Si, M.X., Lai, L., Wu, A.Z., Zhu, L.H. and Cai, R. 2008. Genetic linkage map construction and location of QTLs for fruit-related traits in cucumber. *Plant Breeding*, 127(2): 180-188.
- Yuste-Lisbona, F.J., López-Sesé A.I. and Gómez-Guillamón, M.L. 2010. Inheritance of resistance to races 1, 2 and 5 of powdery mildew in the melon TGR-1551. *Plant Breeding*, 129(1): 72-75.
- Yuste-Lisbona, F.J., Capel, C., Sarria, E., Torreblanca, R., Gómez-Guillamón, M.L., Capel, J., Lozano, R. and López-Sesé, A.I. 2011. Genetic linkage map of melon (*Cucumis melo* L.) and localization of a major QTL for powdery mildew resistance. *Molecular Breeding*, 27(2): 181-192.
- Yuste-Lisbona, F. J., Capel, C., Gómez-Guillamón, M. L., Capel, J., López-Sesé, A. I. and Lozano, R. 2011. Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and applied genetics*, 122(4): 747-758.
- Zhukovsky, P. 1951. Agricultural Structure of Turkey (Anatolia). Türkiye Şeker Fab. AŞ. Yay. 20, 887s.
- Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E., 1996. Compendium of cucurbit diseases. *American Phytopathological Society*, St. Paul, Minn. (EUA).
- Zietkiewicz, E., Rafalski, J.A. and Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2): 176-183.
- Watcharawongpaiboon, N. and Chunwongse, J. 2008. Development and characterization of microsatellite markers from an enriched genomic library of cucumber (*Cucumis sativus*). *Plant Breeding*, 127(1): 74-81.
- Weiland, J.J. and Yu, M.H. 2003. A cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker associated with root-knot nematode resistance in sugarbeet. *Crop Science*, 43(5): 814-881.

ÖZGEÇMİŞ

Pınar AKKELLE

pinar@akkelle.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2016-2018	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2012-2016	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Yüksek Lisans Öğrencisi	Akdeniz Üniversitesi
2016-2018	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

ESER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makale

- 1- Celikli, F. B., Akkelle, P., & Onus, A. N. (2017). In vitro Salinity Evaluation Studies in Golden Berry (Physalis peruviana L.). Biotechnology Journal International, 20(1): 1-8. DOI: 10.9734/BJI/2017/37097